

Aus der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Ein POCT-Assay zur Diagnostik der Rheumatoiden Arthritis

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Renger  
aus Lutherstadt Wittenberg

Gutachter: 1. Dr. sc. med. Dr. rer. nat. K. Egerer

2. Priv.-Doz. Dr. med. A. Lukowsky

3. Prof. Dr. med. M. Schneider

Datum der Promotion: 19.03.2010

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	06
<b>1 Einleitung</b>	08
1.1 Rheumatoide Arthritis	08
1.1.1 Definition	08
1.1.2 Häufigkeit	08
1.1.3 Prognose	08
1.1.4 Ätiologie und Pathogenese	09
1.2 Diagnosestellung	10
1.2.1 Klinik	11
1.2.2 Laborbefunde	12
1.2.2.1 Rheumafaktoren	12
1.2.2.2 Anti-MCV-Antikörper	13
1.3 Point-of-care Testing	15
<b>2 Zielstellung</b>	18
<b>3 Material und Methoden</b>	19
3.1 Probanden	19
3.1.1 RA-Patientengruppe	19
3.1.2 Kontrollgruppe	19
3.1.3 Blutspendergruppe	21
3.2 Ein- und Ausschlusskriterien	21
3.3 Studienaufbau	21
3.4 Materialgewinnung	21
3.5 Bestimmung von Anti-MCV-Ak und RF IgG mittels LFIA	22
3.5.1 Funktionsprinzip des LFIA	22
3.5.2 Aufbau und Funktionsweise des LFIA	22
3.5.3 Probenmaterial	23
3.5.4 Testdurchführung	23
3.5.5 Testauswertung	24
3.6 Bestimmung von Anti-MCV-Ak und RF IgG mittels ELISA	25
3.6.1 Anti-MCV-Ak-ELISA	25

3.6.1.1	Funktionsweise des ELISA	25
3.6.1.2	Assaydurchführung	26
3.6.1.3	Auswertung	27
3.6.2	RF IgG-ELISA	27
3.6.2.1	Funktionsweise des ELISA	27
3.6.2.2	Assaydurchführung	27
3.6.2.3	Auswertung	27
3.7	Statistische Analysen	28
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>30</b>
4.1	Ergebnisse des POCT	30
4.1.1	Ergebnisse des POCT für Anti-MCV-Ak	31
4.1.2	Ergebnisse des POCT für RF IgG	31
4.1.3	Gesamtergebnis des POCT	32
4.2	Ergebnisse des ELISA	32
4.2.1	Ergebnisse des ELISA für Anti-MCV-Ak	32
4.2.2	Ergebnisse des ELISA für RF IgG	32
4.3	Vergleich der Testverfahren POCT und ELISA	33
4.3.1	Vergleich der Testverfahren für die Bestimmung von Anti-MCV-Ak	33
4.3.1.1	Vergleich der Testverfahren für Anti-MCV-Ak in der RA-Gruppe	34
4.3.1.2	Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA	35
4.3.1.2.1	Antikörperkonzentration	35
4.3.1.2.2	Patientengeschlecht	35
4.3.1.2.3	Patientenalter	37
4.3.1.2.4	Erkrankungsdauer	38
4.3.1.3	Vergleich der Testverfahren für Anti-MCV-Ak in der Kontrollgruppe	39
4.3.1.3.1	Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA	39
4.3.1.3.2	Antikörperkonzentration	39
4.3.1.3.3	Diagnose	39
4.3.1.4	Vergleich der Testverfahren für Anti-MCV-Ak in der Blutspendergruppe	39

4.3.2	Vergleich der Testverfahren für die Bestimmung von RF IgG	41
4.3.2.1	Vergleich der Testverfahren für RF IgG in der RA-Gruppe	42
4.3.2.2	Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA für RF IgG	43
4.3.2.2.1	Antikörperkonzentration	
4.3.2.2.2	Patientengeschlecht	44
4.3.2.2.3	Patientenalter	45
4.3.2.2.4	Krankheitsdauer	46
4.3.2.3	Vergleich der Testverfahren für die Bestimmung von RF IgG in der Kontrollgruppe	47
4.3.2.3.1	Antikörperkonzentration	47
4.3.2.3.2	Diagnose	48
4.3.2.4	Vergleich der Testverfahren für RF IgG in der Blutspendergruppe	48
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>50</b>
5.1	Durchführbarkeit und Praxistauglichkeit des POCT	51
5.2	Anti-MCV-Antikörper	51
5.3	Rheumafaktor IgG	54
5.4	Anforderungen an einen diagnostischen Test	55
5.5	Screening- oder Bestätigungstest?	56
5.6	Vergleich mit anderen Arbeiten zum Thema	57
5.7	Limitierung der Studie	58
5.8	Stärken der Studie	59
5.9	Schlussfolgerungen für die Praxis	59
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>62</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>64</b>
	<b>Anhang</b>	<b>69</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACPA	Antikörper gegen citrullinierte Peptide
ACR	American College of Rheumatology
Anti-CCP-Ak	Antikörper gegen zyklische citrullinierte Peptide
Anti-CCP2	Antikörper gegen zyklische citrullinierte Peptide 2. Generation
AS	Aminosäure
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
C	Kontrolllinie
CD	Cluster of Differentiation
CD4+ Zellen	T-Helfer-Zellen
CK-MB	Kreatininkinase vom Myokardtyp
CREST-Syndrom	Limitierte Form der systemischen Sklerose mit Calcinosis cutis, Raynaud-Syndrom, Ösophagusbeteiligung, Sklerodaktylie, Teleangiektasie
CRP	c-reaktives Protein
d-Dimere	Fibrinspaltprodukte aus je 2 D-Untereinheiten
DAS 28	Disease Activity Score 28
DMARD	Disease Modifying Anti-Rheumatic Drug
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Fc-Region	Fragment Crystallizable Region
Fc-Teil	Fragment Crystallizable Part
FN	falschnegativ
FP	falschpositiv
HLA	Human Leucocyte Antigen
IL	Interleukin
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin der Klasse A
IgG	Immunglobulin der Klasse G
IgM	Immunglobulin der Klasse M
i. S.	im Serum
i. U.	im Urin
LFIA	Lateral-flow Immunochromatographic Assay
M.	Morbus
MCP	Metakarpophalangealgelenk

MCTD	Mixed connective tissue disease
MCV	mutiertes citrulliniertes Vimentin
MHC	Major Histocompatibility Complex
m. S.	mit Schwerpunkt
OP-Dauer	Operationsdauer
PAD	Peptidylarginindeiminase
PAN	Panarteriitis nodosa
Pat.	Patient
PBC	Primär biliäre Zirrhose
PIP	proximales Interphalangealgelenk
POCT	Point of care Test / Testing
Präv.	Prävalenz
RA	Rheumatoide Arthritis
RF	Rheumafaktor
RN	richtignegativ
RP	richtigpositiv
SAPHO-Syndrom	Variante der Psoriasis-Arthritis: Synovitis, Akne, Psoriasis pustulosa, Hyperostosis, Osteitis
Sens.	Sensitivität
SLE	Systemischer Lupus erythematodes
Spez.	Spezifität
TH1-Zellen	T-Helferzellen vom TH1-Typ
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$

## 1 Einleitung

### 1.1 Rheumatoide Arthritis (RA)

#### 1.1.1 Definition

Die rheumatoide Arthritis ist eine chronische und systemische Erkrankung bisher unbekannter Ursache. Im Zentrum steht die persistierende Entzündung der Synovialmembran, welche typischerweise zunächst vor allem kleine Gelenke der Peripherie symmetrisch befällt. Die Synovitis kann zu Zerstörung des Gelenkknorpels und Erosion des Knochens führen und damit zur Beeinträchtigung der Gelenkfunktion bis zur völligen Zerstörung und Versteifung des Gelenks (Choy et al. 2001; Harris 2005). Die RA zeichnet sich durch unterschiedliche Verläufe aus: Manche Patienten erkranken milde und die Beschwerden sind selbstlimitierend oder schnell rückläufig (Lee et al. 2001), während andere an einer schweren, progredienten Erkrankung mit zunehmenden Bewegungseinbußen und Schmerzen leiden, die bis zu Invalidität und vorzeitigem Tod führen kann (Cobb et al. 1953; Scott et al. 1987). Zudem geht die rheumatoide Arthritis mit extraartikulären Manifestationen einher (Young et al. 2007).

#### 1.1.2 Häufigkeit

Die Prävalenz der RA liegt bei etwa 1 % der Bevölkerung, wobei Frauen und Männer im Verhältnis von 2-3:1 betroffen sind (Lee et al. 2001). Etwa 80 % der RA-Patienten erkranken zwischen dem 35. und dem 50. Lebensjahr.

#### 1.1.3 Prognose

Die RA zeigt einen äußerst variablen Verlauf, der für den einzelnen Patienten oft nur schwer vorhersagbar ist. Jedoch sind einige Faktoren bekannt, die für einen progredienten, schweren Krankheitsverlauf sprechen, der einem Großteil der Patienten widerfährt; diese sind in Tabelle 1 aufgeführt. Nach 10 Jahren sind 50 – 60 % der Patienten erwerbsunfähig (Sokka et al. 1999). Die Lebenserwartung von Patienten mit RA ist verringert (Cobb et al. 1953), häufige Todesursachen sind kardiovaskuläre Erkrankungen (Reilly et al. 1990), Erkrankungen des Respirationstrakts und Infektionen (Cobb et al. 1953). Die Gründe sind vielfältig und liegen in der Erkrankung selbst, ihren Komplikationen und ihrer Behandlung (Scott et al. 1987).



Tabelle 1. Prognosefaktoren für einen aggressiven Verlauf der RA (Lee et al. 2001)

1	Positiver Nachweis des Rheumafaktors IgM
2	Nachweis von HLA DR4 Allelen
3	Frühzeitige Gelenkerosionen
4	Zunehmende Anzahl betroffener Gelenke
5	Frühzeitige Behinderung
6	Später Krankheitsbeginn
7	Geringes Bildungsniveau
8	Auftreten extraartikulärer Manifestationen

#### 1.1.4 Ätiologie und Pathogenese

Die Ätiologie der rheumatoiden Arthritis ist bis heute unbekannt, genetische Faktoren spielen jedoch für die Entstehung der RA eine große Rolle. Die Pathogenese ist äußerst komplex und bislang nicht vollständig aufgeklärt. Eine genetische Suszeptibilität spiegelt sich in der Assoziation der RA mit den MHC-Haplotypen DRB1\*0401, DRB1\*0404 und DRB1\*0101 (Gregersen et al. 1987; Wordsworth et al. 1989; Ronningen et al. 1990) und der familiären Häufung der RA wider. Autoimmunreaktionen und die vielfältigen zerstörerischen und krankheitsunterhaltenden Wirkungen der Mediatoren sind zentrale Elemente in der Pathogenese. Im Zentrum der Erkrankung steht die Entzündung der Gelenkinnenhaut (Synovialis) und deren Invasion durch nahezu alle immunologisch relevanten Zellen: allen voran wandern CD4+ T-Zellen in die Gelenkinnenhaut ein und differenzieren zu TH1-Zellen mit nachfolgender Sekretion verschiedener proinflammatorischer Mediatoren; aber auch aktivierte Mastzellen, Makrophagen, Neutrophile sowie Plasmazellen und B-Lymphozyten sind in der Synovialis zu finden. Letztere bilden follikelähnliche Strukturen und sezernieren Autoantikörper. Die synovialen Fibroblasten durchlaufen eine Transformation zu aktivierten Fibroblasten, die aggressive, bindegewebszerstörende Enzyme bilden und sezernieren. So kommt es letztendlich zur Bildung von Pannus: aus dem Synovialgewebe sprosst aggressiv wachsendes Mesenchym, welches Gelenk, Knorpel und Knochen zerstört. Der Entzündungsprozess wird durch die Vielzahl der beteiligten Zellen und Zytokine und durch ständige Antigenpräsentation aufrechterhalten. Die pathogenetischen und pathophysiologischen Abläufe ändern sich im Laufe der Erkrankung und können

interindividuell unterschiedlich sein (Harris 1990; Choy et al. 2001; Lee et al. 2001; Firestein 2003; Smolen et al. 2003).

## 1.2 Diagnosestellung

Die Diagnosestellung der RA setzt sich im Wesentlichen aus der Anamneseerhebung und der körperlichen Untersuchung zusammen, zusätzlich werden Laboruntersuchungen und bildgebende Verfahren eingesetzt. Die Diagnose RA ist in der Frühphase der Erkrankung schwer zu stellen, wenn nur Allgemeinsymptome und intermittierende Arthralgien oder Arthritiden in asymmetrischer Verteilung vorliegen. Jedoch entsteht bereits in der frühen Phase der Erkrankung ein erosiver, zumeist irreversibler Schaden an den Gelenken, der gerade zu Beginn der RA besonders schnell fortschreitet (Van Der Heijde 1995). Zur Diagnose der rheumatoiden Arthritis werden die in Tabelle 2 dargestellten Klassifikationskriterien des ACR herangezogen (Arnett 1989).

Tabelle 2. Kriterien zur Klassifikation der RA (Arnett 1989)

1	Morgensteifigkeit der Gelenke von mindestens einstündiger Dauer
2	Weichteilschwellung oder Erguss (Arthritis) an mind. 3 Gelenkbereichen
3	Arthritis der Hand- oder Fingergelenke: Schmerzen und Schwellung von Handwurzelgelenken, proximalen Interphalangealgelenken (PIP) oder Metakarpophalangealgelenken (MCP)
4	Symmetrische Arthritis: gleichzeitiger Befall desselben Gelenkbereiches beider Körperhälften
5	Rheumaknoten: subkutane Knoten über Knochenvorsprüngen oder Extensorflächen oder im juxtaartikulären Bereich
6	Nachweis von Rheumafaktoren im Serum
7	Typische radiologische Veränderungen der Hände: gelenknahe Osteoporose und/oder Erosionen

Eine RA liegt vor, wenn 4 der 7 Kriterien erfüllt sind. Die Kriterien 1-4 müssen über mind. 6 Wochen bestanden haben. Die Kriterien zeigen eine Sensitivität von 91-94% und eine Spezifität von 89%.

### 1.2.1 Klinik

Charakteristischerweise ist die rheumatoide Arthritis eine chronische Polyarthrit. Typisch ist ein eher schleichender Beginn der Erkrankung. Bei der Mehrheit der Patienten stehen am Anfang unspezifische Allgemeinsymptome wie Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Gewichtsverlust und Leistungsabfall im Vordergrund. Spezifische Symptome treten allmählich mit dem symmetrischen Befall mehrerer Gelenke auf, insbesondere der Finger-, Hand-, Knie- und Fußgelenke, die als Schmerz, Schwellung und Bewegungseinschränkung imponieren. Die Symptome sind meist morgens am deutlichsten ausgeprägt und halten mehr als 60 Minuten an, dies bezeichnet man als Morgensteifigkeit. Bei andauernder Entzündung kann es zur Entwicklung verschiedener charakteristischer Deformitäten wie beispielsweise der radialen Deviation des Handgelenks mit Ulnardeviation der Finger, Schwanenhals- und Knopflochdeformität kommen. Extraartikuläre Manifestationen kommen hauptsächlich bei Patienten mit hohen Rheumafaktortitern vor. Gelegentlich können sie das wesentliche Zeichen der Krankheitsaktivität und die Ursache der Morbidität sein, sodass sie therapiert werden müssen (Harris 2005; DGRh 2007). Tabelle 3 führt extraartikuläre Manifestationen der RA auf.

Tabelle 3. Extraartikuläre Manifestationen in der RA (Lee et al. 2001)

<b>Organ</b>	<b>Manifestation</b>
Haut	Rheumaknoten, Vaskulitis
Auge	Keratokonjunktivitis sicca, Iritis, Episkleritis
Mund	Entzündung der Speicheldrüsen, Sicca-Symptome
Lunge	Lungenfibrose, Pleuraergüsse
Herz	Perikarditis, Myokarditis
Nervensystem	Mononeuritis, Nerveneinklemmung, zervikale Instabilität
Leber	Transaminasenerhöhung
Blut, Lymphe	Anämie, Thrombozytose, Leukozytose, Lymphadenopathie Felty-Syndrom: Splenomegalie und Thrombozytopenie
Gefäße	Vaskulitis

### 1.2.2 Laborbefunde

Die Laboruntersuchungen dienen zum einen der Bestätigung des klinischen Verdachts einer rheumatoiden Arthritis, zum anderen der Abgrenzung gegen andere rheumatologische Erkrankungen. Im Rahmen der RA-Diagnostik sind unspezifische Laborbefunde wie eine erhöhte BSG, ein erhöhtes CRP sowie Blutbildveränderungen wie Entzündungsanämie und Thrombozytose zu erwarten. Neben der Bestimmung von Rheumafaktoren steht heutzutage der Nachweis von sehr sensitiven und hochspezifischen Antikörpern gegen citrullinierte Antigene (ACPA) im Vordergrund (Feist et al. 2007; Egerer et al. 2009).

#### 1.2.2.1 Rheumafaktoren

Rheumafaktoren sind Autoantikörper, die gegen die Fc-Region von Immunglobulinen der Klasse IgG gerichtet sind. Erstmals von Waaler und Rose 1940 und 1949 beschrieben (Waaler 2007), haben sie seither einen festen Stellenwert in der Diagnostik der RA. Die Sensitivität des RF IgM liegt bei 60 – 80 %, seine Spezifität bei 80 – 95 % (Feist et al. 2007). Der positive Nachweis von RF IgM stellt ein Klassifikationskriterium des „American College of Rheumatology (ACR)“ der RA dar (Arnett 1989) und besitzt als Subtyp RF IgA einen prognostischen Wert für einen erosiven und schweren Verlauf (Lindqvist et al. 2005). Bei mehr als zwei Drittel der RA-Patienten sind RF nachweisbar (Dorner et al. 2004), Patienten mit extra-artikulären Manifestationen sind nahezu immer RF-positiv (Turesson et al. 2007). Rheumafaktoren kommen jedoch auch bei bis zu 5 % der gesunden Bevölkerung und 10 – 25 % der gesunden über 70-Jährigen vor (Messinger 2005). Ebenso treten Rheumafaktoren im Rahmen von anderen rheumatischen und nicht-rheumatischen Erkrankungen auf, beispielsweise bei viralen Infektionen, akuten und chronischen entzündlichen Erkrankungen sowie lymphoproliferativen Erkrankungen (Shmerling et al. 1991; Harris 2005).

Rheumafaktoren des IgG-Subtyps sind Rheumafaktoren höherer Affinität und kommen fast ausschließlich im Rahmen der RA vor, insbesondere in Kombination mit anderen Isotypen. Außerdem sind sie im Serum und in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit schwerer RA zu finden, zudem werden mit dem Vorhandensein von RF IgG systemische Manifestationen der RA assoziiert (Harris 2005).

### 1.2.2.2 Anti-MCV-Antikörper

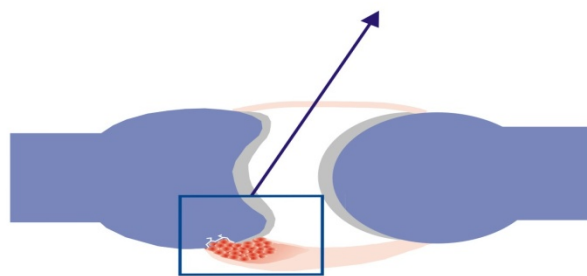
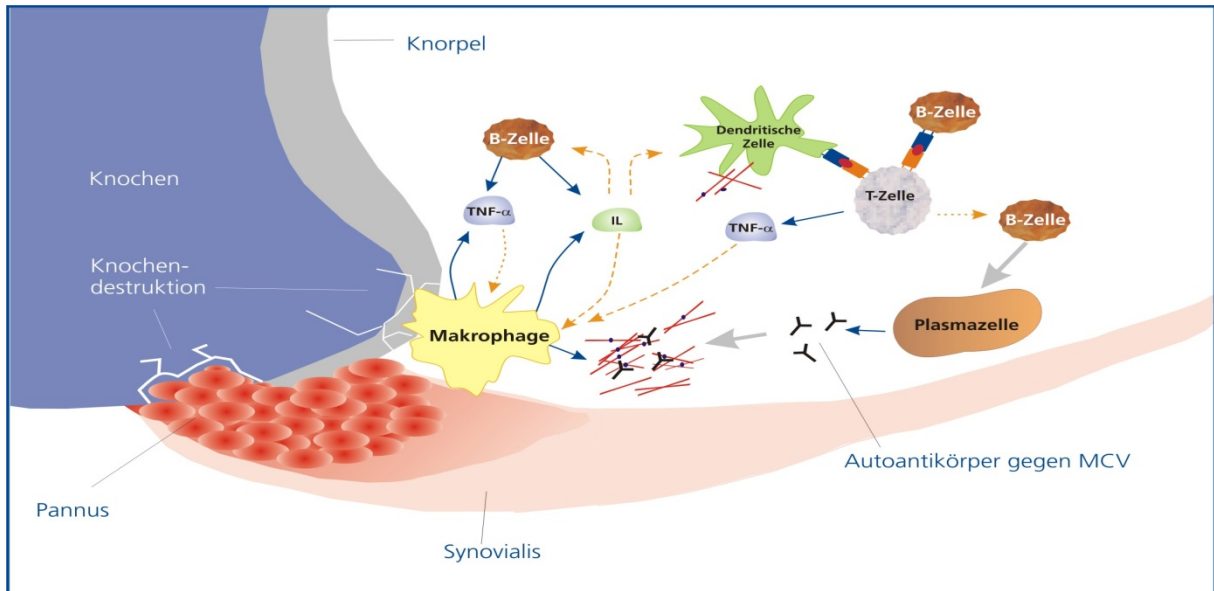
1994 wurde mit dem Anti-Sa-Antikörper ein neuer Autoantikörper für die RA beschrieben, benannt nach einem Patienten namens Savoie. Anti-Sa-Antikörper ließen sich sowohl in den Seren seropositiver als auch seronegativer RA-Patienten nachweisen (Despres et al. 1994). Eine Spezifität von 98,9 % für die RA und eine Sensitivität von 30 – 40 %, die Nachweisbarkeit der Anti-Sa-Ak von Krankheitsbeginn an und Assoziation mit höherer Krankheitsaktivität sowie schwererem Krankheitsverlauf sind Charakteristika dieses Autoantikörpers (Despres et al. 1994; Hayem et al. 1999). Das Sa-Antigen konnte in der Synovialis und die IgG-Autoantikörper in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen werden (Menard et al. 2000). Sa wurde schließlich als citrulliniertes Vimentin identifiziert. (Vossenaar et al. 2004)

Vimentin ist ein weit verbreitetes Intermediärfilament, das in mesenchymalen Zellen wie Makrophagen sowie auch in der Synovialmembran und in fibroblasten-ähnlichen Synoviozyten zu finden ist (Xue et al. 1997; Marinova-Mutafchieva et al. 2000; Mor-Vaknin et al. 2003; Ota et al. 2003). Vimentin wurde lange für ein ausschließlich intrazelluläres Strukturprotein des Cytoskeletts gehalten, vornehmlich in strukturelle Prozesse wie die Wundheilung involviert. Es zeigte sich, dass aktivierte Makrophagen als Folge proinflammatorischer Stimuli Vimentin in den Extrazellulärraum sezernieren, wo es eine Rolle beim Abtöten von Bakterien und der Bildung von oxidativen Metaboliten übernimmt (Mor-Vaknin et al. 2003).

Die Citrullinierung beschreibt die posttranslationale Modifikation von Proteinen durch das kalziumabhängige Enzym Peptidylarginindeiminase (PAD), hierbei wird Arginin in die Aminosäure (AS) Citrullin umgewandelt (Fearon 1939). Unter physiologischen Bedingungen in der Zelle sind die Kalziumkonzentrationen niedrig und die PAD inaktiv. Unter extremen Bedingungen wie z.B. Apoptose kann es zur Citrullinierung von Vimentin kommen, so wurde dies in Makrophagen beobachtet (Asaga et al. 1998). Antikörper gegen citrulliniertes Vimentin können als Resultat einer unzureichenden Beseitigung von Apoptoseresten entstehen (Vossenaar et al. 2004), somit stellt citrulliniertes Vimentin ein relevantes gelenkassoziiertes Autoantigen in der RA dar, welches vermutlich für die Pathogenese und die Aufrechterhaltung der Erkrankung von Bedeutung ist.

Die mögliche Beteiligung der Antikörper gegen MCV bei der Entstehung der RA ist in Abb. 1 dargestellt. Im entzündeten Gelenk wird MCV von Makrophagen sezerniert. Über dendritische Zellen erfolgt die Antigenpräsentation an T-Zellen, die wiederum

B-Zellen stimulieren. Diese differenzieren zu Plasmazellen, die wiederum Autoantikörper gegen MCV bilden. Bei Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes kommt es zur weiteren Aktivierung von Zytokinen, Entzündungszellen und Komplement, so dass die Entzündungsreaktion aufrechterhalten bzw. verstärkt wird.



#### LEGENDE

	Produktion bzw. Ausschüttung
	Stimulation
	Vimentin
	Mutiertes-Citrulliniertes Vimentin
	Antigenpräsentation
	Interleukine

Abbildung 1. MCV und pathogenetische Implikationen (Egerer et al. 2009)

Bang *et al.* untersuchten Modifikationen von Vimentin unter pathogenen Bedingungen wie oxidativem Stress und identifizierten eine mutierte Isoform des Vimentins, die aus einer humanen Fibroblastenzelllinie und aus Proben von Gelenkflüssigkeit von RA-Patienten gewonnen wurde. Dieses mutierte Vimentin wurde anschließend standardisiert exprimiert und citrulliniert. Die Bestimmung von Antikörpern gegen dieses mutierte citrullinierte Vimentin (MCV) im Serum von 1151 RA-Patienten ergab eine Sensitivität von 82 % und eine Spezifität von 98 % (Bang et al. 2007). Weitere Studien bestätigten eine Sensitivität um 75 % und eine Spezifität um 95 % (Dejaco et al. 2006; Coenen et al. 2007; Soos et al. 2007; Mathsson et al. 2008).

Für Anti-MCV-Ak wurden zudem folgende Eigenschaften beschrieben:

- Korrelation mit der Krankheitsaktivität (Bang et al. 2007; Wagner et al. 2009)
- Bessere Prädiktoren der Krankheitsaktivität nach 24 Monaten bei früher RA als Anti-CCP-Ak (Innala et al. 2008)
- Assoziation mit schwererem Krankheitsverlauf gemessen an DAS 28 und BSG (Innala et al. 2008)
- Besserer prognostischer Wert im Hinblick auf zukünftige radiologische Destruktionen in früher RA als Anti-CCP-Ak (Ursum et al. 2008)
- Assoziation mit  $\uparrow$ Sharp-Score,  $\uparrow$ BSG,  $\uparrow$ CRP (Ursum et al. 2008)
- Monitoring der Anti-TNF $\alpha$ -Therapie (Infliximab) (Nicaise Roland et al. 2008)

### 1.3 Point-of-care Testing

Point-of-care Testing (POCT), auch als patientennahe Sofortdiagnostik oder patientennahe Laboratoriumsdiagnostik bezeichnet, beschreibt Analysen, die direkt am Patientenbett oder in unmittelbarer räumlicher Nähe zum Patienten durchgeführt werden können. Es handelt sich meist um qualitative oder semiquantitative Messungen, die durch den Einsatz von Vollblut, Urin und anderen Materialien keine Vorbereitung der Proben erfordern. Zudem sind keine Pipettierschritte vonnöten, da es sich um gebrauchsfertige Reagenzien und spezielle, einfach zu bedienende Messgeräte handelt ([www.dgkl.de/poct/index.html](http://www.dgkl.de/poct/index.html) 2009). Ursprünglich wurden POCT-Assays entwickelt, um in der Klinik so zeitnah wie möglich aus Laborwerten direkte therapeutische Konsequenzen bei lebensbedrohlichen Notfällen ziehen zu können. Inzwischen werden POCTs auch in anderen Bereichen wie z.B. der Patientenselbstkontrolle eingesetzt. Nach wie vor ist jedoch die Intensivmedizin das vorherrschende Einsatzgebiet, und der am meisten per POCT bestimmte Parameter ist die Glucosekonzentration im Serum. Das Hauptziel von POCT ist es, so schnell wie möglich ein Ergebnis zu erzielen, damit unverzüglich die entsprechenden weiterführenden Maßnahmen, meist eine Therapie, eingeleitet werden können. Nur wenn aufgrund des angezeigten Ergebnisses eine Reaktion erfolgt, kann der POCT medizinischen und/oder wirtschaftlichen Erfolg haben, siehe Abb.2 (Price 2001).

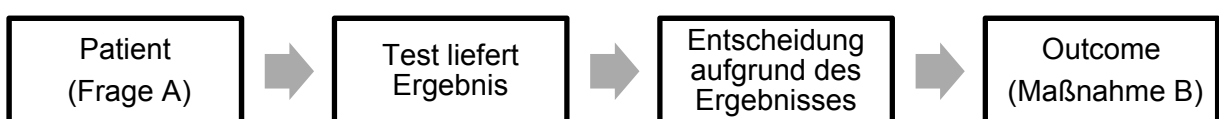


Abbildung 2. Fließschema Ziel eines POCT nach Price

Price beschreibt, in Tabelle 4 dargestellt, vier verschiedene Einsatzbereiche für POCTs.

Tabelle 4. Einsatzbereiche von POCTs, modifiziert nach Price

<b>1</b>	<b>Selbsttestung durch den Patienten</b>	Glucose i. S. bei Diabetes mellitus, Serumspiegel von Antikoagulantien bei oraler Antikoagulation oder Antikonvulsiva bei Epilepsie, Schwangerschaftstest zur Therapieüberwachung und –optimierung, Diagnostik
<b>2</b>	<b>Medizinische Grundversorgung</b>	Helicobacter pylori bei Ulcus ventriculi/duodeni; Leukocytinesterase, Nitrit i. U. bei Harnwegsinfekten, CRP bei Infektionen, Legionellen, Pneumokokken, Influenza bei Infektionen der unteren Atemwege zur Entscheidung über Antibiotikatherapie, Wahl des Antibiotikums und Einsparen unnötiger Antibiotikatherapie, Vermeidung von Komplikationen durch Verzögerung (Kato et al. 2004; Charles et al. 2007)
<b>3</b>	<b>Notaufnahme/ Intensivmedizin</b>	Blutgase, Elektrolyte, kardiologische Marker wie Troponin, Myoglobin, CK-MB, D-Dimere zur Triage, Risikoabschätzung, Dringlichkeit invasiver Maßnahmen (Dempfle et al. 2001; Price 2001; Fermann et al. 2002; Chen et al. 2005; Ekelund et al. 2007)
<b>4</b>	<b>Operationstrakt</b>	Messung der Parathyroidhormonkonzentration, des Gerinnungsstatus zum intraoperativen Monitoring, zur Verkürzung der OP- Dauer und damit auch der postoperativen Komplikationen, Vermeidung vom Risiko eines Transfusionszwischenfalls und Senkung der Revisionsraten und Einsparen von Blutkonserven



Neben der Effizienz durch unverzügliches Handeln in Abhängigkeit des Resultats stellt Price an einen POCT folgende, weitere Anforderungen (Price 2001): (1) Schnelle Generierung eines Ergebnisses, aus dem eine Behandlungskonsequenz hervorgeht. (2) Sicherung von Validität und Reliabilität durch trainiertes Personal. (3) Zunächst eventuell höherer finanzieller Aufwand lohnt sich langfristig, z.B. durch schnellere Therapie, Verkürzung von Krankenhausaufenthalten oder das Vermeiden von Komplikationen. (4) Zeitersparnis: POCTs ermöglichen dem Arzt, noch während der Sprechstunde und in Anwesenheit des Patienten das Ergebnis zu erfahren und ohne Zeitverlust weiter zu entscheiden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird erstmals ein POCT zur Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern und Rheumafaktoren des IgG-Subtyps zur Diagnostik der rheumatoiden Arthritis untersucht und damit ein Einsatzbereich in der Rheumatologie eröffnet. Es handelt sich um einen Lateral-flow Immunochromatographic Assay, der auf der Fähigkeit beruht, dass im Probenmaterial befindliche Autoantikörper an MCV und Fc-Fragment von humanem Immunglobulin binden. Es werden 20 µl Blut auf das Probenfeld gegeben und das Ergebnis wird anhand von Test- und Kontrolllinien abgelesen.

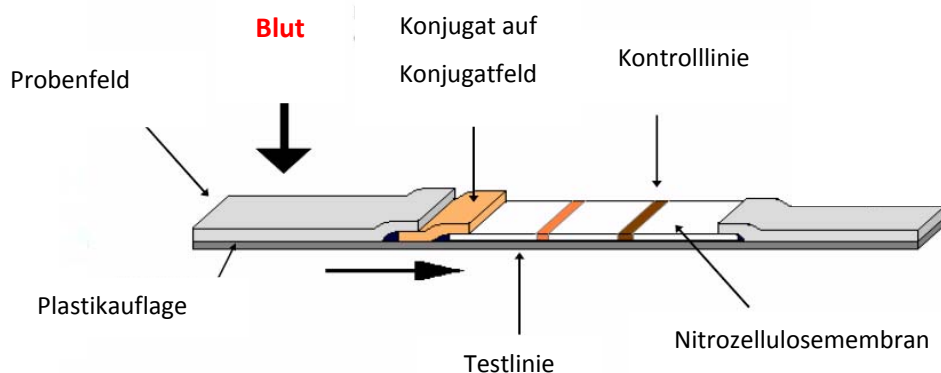


Abbildung 3. Schema eines Lateral-flow Immunochromatographic Assay–Schnelltests

## 2 Zielstellung

Mit einer Prävalenz von etwa 1 % der Bevölkerung ist die rheumatoide Arthritis die häufigste entzündliche Gelenkerkrankung (Firestein 2005). Besonders zu Erkrankungsbeginn ist die Diagnosestellung aufgrund der Differentialdiagnosen schwierig und oft langwierig (Chan et al. 1994; Hernandez-Garcia et al. 2000). Bereits in den ersten Monaten und Jahren führt die RA zu irreversiblen Schäden (Van Der Heijde 1995) und Funktionsverlust von Gelenken, wenn sie nicht frühzeitig und adäquat therapiert wird. Die RA kann in Invalidität und Arbeitsunfähigkeit münden (Pincus et al. 1984; Sherrer et al. 1986; Eberhardt et al. 2007). Schon zwei bis drei Jahre nach Erkrankungsbeginn muss bis zu ein Drittel der Patienten krankheitsbedingt seine Arbeit aufgeben (Borg et al. 1991; Jantti et al. 1999). Dies verursacht neben der Therapie erhebliche indirekte Kosten (Cooper 2000; Pugner et al. 2000), da die RA die Patienten meist in ihrer produktiven Phase trifft.

Eine frühzeitige Behandlung mit DMARDs, sogenannten krankheitsmodifizierenden Medikamenten, kann die Progression verzögern oder verlangsamen, Langzeitschäden reduzieren und so neben der Verbesserung der Lebensqualität der Patienten zu einer Verringerung der Gesamtkosten der RA führen (Pugner et al. 2000). Eine rechtzeitige Therapie setzt eine unverzügliche und sichere Diagnosestellung voraus.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll erstmals ein neu entwickelter POCT zum qualitativen Nachweis von Anti-MCV-Antikörpern und Rheumafaktor IgG untersucht werden. Der Test soll an Patienten mit seropositiver RA, Patienten mit anderen rheumatologischen Erkrankungen und gesunden Probanden durchgeführt werden. Folgende Fragen sind zu beantworten:

- (1) Funktioniert der Schnelltest? Ist der Schnelltest praxistauglich?
- (2) Wie sind Sensitivität und Spezifität des Tests?
- (3) Wie ist die Übereinstimmung der Ergebnisse des POCT mit denen des ELISA?
- (4) Erfüllt er die Bedingungen an ein gutes Testverfahren? Erfüllt der Test die Anforderungen an einen POCT?
- (5) Wie sollte er eingesetzt werden? Ist er für eine schnellere Diagnosestellung der RA hilfreich?

### **3 Material und Methoden**

#### 3.1 Probanden

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 430 Probanden untersucht: 108 Patienten mit bisher seropositivem/anti-MCV positivem Verlauf der RA z.T. unter DMARD-Therapie sowie 122 Patienten einer Kontrollgruppe mit sero-negativem Verlauf der RA und anderen rheumatologischen Erkrankungen. Zudem standen die Daten von 200 Blutspendern aus Mainz zur Verfügung. Von allen an dieser Studie teilnehmenden Probanden liegt die schriftliche Einverständniserklärung vor.

##### 3.1.1 RA-Patientengruppe

Alle 108 RA-Patienten waren Patienten der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie des Campus Charité Mitte sowie der Rheumaklinik Berlin Buch. Die Patienten der Charité waren entweder stationär oder Patienten des Rheumadispensaires der Poliklinik. Patienten der Rheumaklinik Buch waren Patienten der rheumatologischen Fachambulanz. Unter den 108 RA-Patienten waren 87 Frauen (80,5 %) und 21 Männer (19,5 %). Das Alter in der Patientengruppe betrug  $57,9 \pm 13,8$  Jahre. Der jüngste Patient war 18 Jahre, der älteste 82 Jahre alt.

##### 3.1.2 Kontrollgruppe

Alle Patienten waren Patienten der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie des Campus Charité Mitte sowie der Rheumaklinik Berlin Buch. Unter den 122 Kontrollpatienten waren 84 Frauen (68,9 %) und 38 Männer (31,1 %). Das Alter in der Kontrollgruppe betrug  $57,1 \pm 14,0$  Jahre. Der jüngste Patient dieser Gruppe war 20 Jahre, der älteste 85 Jahre alt.

Die Diagnosen in der Kontrollgruppe setzten sich wie in Tabelle 5 dargestellt zusammen. Die Verteilung der Patienten nach Standorten ist in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 5. Diagnosen in der Kontrollgruppe

Diagnose	Patientenanzahl
Ankylosierende Spondylitis	21
Psoriasis-Arthritis	20
Seronegative Rheumatoide Arthritis	20
Sjögren-Syndrom	8
Polymyalgia rheumatica	8
Borreliose	6
Polyarthrose	5
SLE und Sjögren-Syndrom	4
Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	3
Vaskulitis	2
Wegenersche Granulomatose	2
Arthritis urica	2
CREST-Syndrom	2
Oligoarthritits	2
Mixed connective tissue disease (MCTD)	1
Unspezifische Kollagenose	1
Uveitis	1
Juvenile rheumatoide Arthritis	1
Zöliakie und Arthritis	1
Colitis ulcerosa und Arthritis	1
Reaktive Arthritis	1
Arthrose	1
Kutane Panarteriitis nodosa (PAN)	1
Sjögren-Syndrom und Primär biliäre Cirrhose (PBC)	1
Systemische Sklerose/Overlap-Syndrom	1
Vaskulitis und Sicca-Syndrom	1
Spondylodiscitis	1
SAPHO-Syndrom	1
Systemische Sklerose	1
Sakroiliitis	1
M. Behçet	1

Tabelle 6. Verteilung der Gruppen Campus Charité Mitte und Rheumaklinik Buch

	CCM	Buch
<b>RA-Patienten</b>	54	54
<b>Kontrollpatienten</b>	82	40
<b>Gesamt</b>	136	94

### 3.1.3 Blutspendergruppe

Unter den 200 Blutspendern waren 139 Frauen (69,5 %) und 61 Männer (30,5 %). Das Alter in der Blutspendergruppe betrug  $47,4 \pm 19,1$  Jahre. Der jüngste Spender war 16 Jahre, der älteste 88 Jahre alt.

### 3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurden Patienten mit bisher seropositiver RA nach den Klassifikationskriterien des American College of Rheumatology eingeschlossen. In die Kontrollgruppe wurden Patienten mit rheumatologischer Diagnose und Patienten mit einer bisher seronegativen RA eingeschlossen. Ausschlusskriterium war der bloße Verdacht auf eine rheumatologische Erkrankung.

### 3.3 Studienaufbau

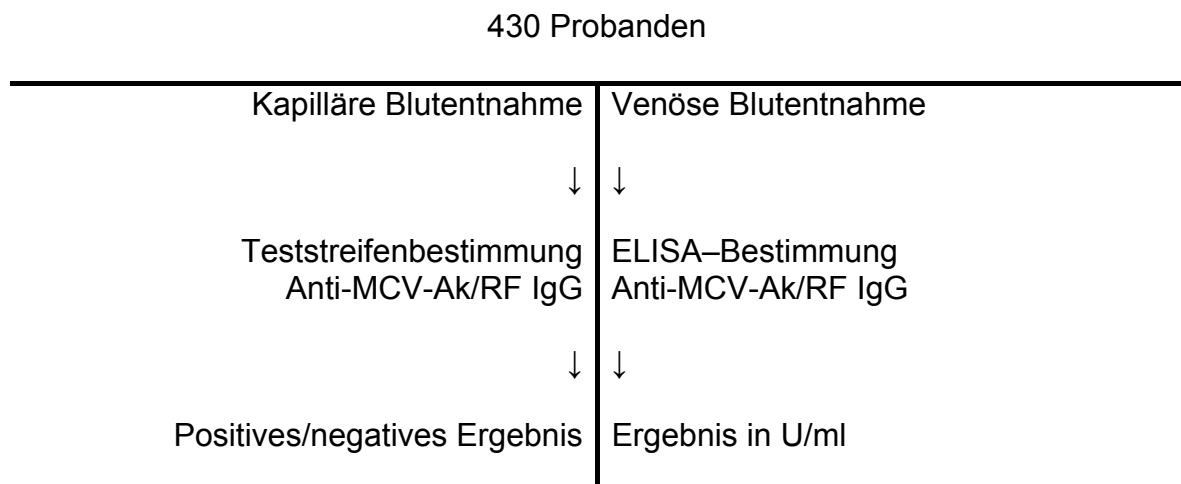


Abbildung 4. Studienaufbau

### 3.4 Materialgewinnung

Die Probanden unterzogen sich eines Lanzettenstichs in die Fingerbeere zur Gewinnung von Kapillarvollblut für die Teststreifendiagnostik und einer gleichzeitigen

venösen Blutabnahme für den ELISA. Die venösen Blutproben in Serumröhrchen wurden zentrifugiert, aliquotiert und bei  $< -20\text{ °C}$  bis zur Bestimmung gelagert.

### 3.5 Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern und Rheumafaktor IgG mittels Lateral-flow Immunochromatographic Assay (LFIA)

#### 3.5.1 Funktionsprinzip des LFIA

Der LFIA ist ein immunchromatographischer Schnelltest, der Rheumafaktoren und Anti-MCV-Antikörper in einer Blutprobe parallel nachweisen kann. Sofern die Probe diese Antikörper enthält, binden sie an die Antigene der Test-Membran (Fc-Teil humaner Immunglobuline + rekombinantes MCV) und werden wiederum von Goldmarkierten Antikörpern gebunden. Im Ergebnis werden eine oder zwei rote Testlinien (nur RF IgG oder Anti-MCV-Ak oder beide Antikörper präsent) sichtbar. Der Test enthält ein integriertes Kontrollsystem, welches die korrekte Testdurchführung anzeigt. Benötigt werden ein bis zwei Blutstropfen (10 bis 20  $\mu\text{l}$ ) aus der Fingerbeere des Patienten. Nach 10 bis 15 Minuten liegt das Ergebnis vor.

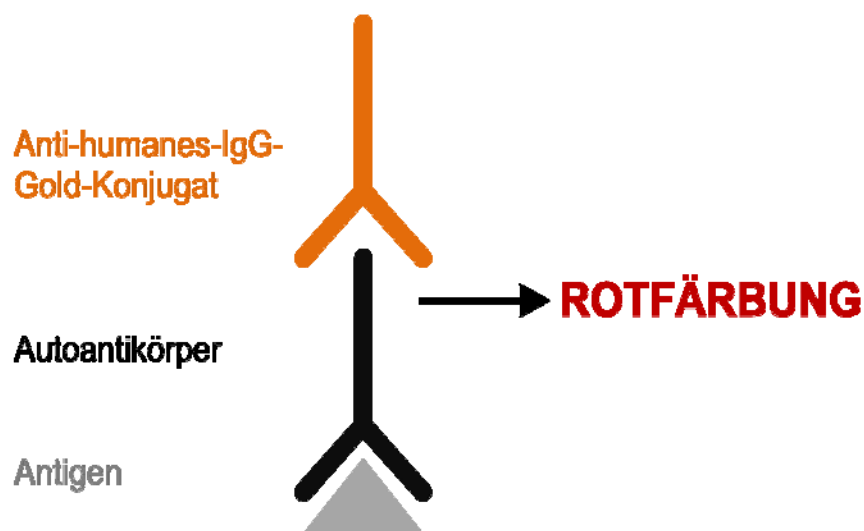


Abb.5 Funktionsprinzip des LFIA

#### 3.5.2 Aufbau und Funktionsweise des LFIA

Dieser Lateral-flow immunochromatographic assay (LFIA) wurde als direkter Sandwich-Assay mit zwei aufgetragenen Antigenen entwickelt. Die Testvorrichtung (DCN, Carlsbad, CA, USA) besteht aus einer Plastikaufgabe mit aufgelagerter Nitrozellulosemembran. (Dicke  $205\pm 1\text{ }\mu\text{m}$ , Millipore, Billerica, MA, USA). Gereinigtes rekombinantes MCV und gereinigtes Fc-Fragment von humanem Immunglobulin ist auf die zwei Testlinien MCV und RF ( $\sim 1\text{ mg/ml}$ ) und Protein L ( $0,5\text{ mg/ml}$ ) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) auf die Kontrolllinie aufgetragen. An von Ziegen

stammendes anti-humanes IgG und IgM (Dianova, Hamburg, Deutschland) gebundene Goldpartikel (40 nm, British BioCell International, Cardiff, Großbritannien) wurden aufbereitet, gemischt und auf ein Konjugatkissen gegeben (Arista Biologicals, Allentown, PA, USA). Dieses Kissen ist so am Teststreifen fixiert, dass es sich mit der Nitrozellulosemembran am proximalen Ende überlappt. Ein zusätzliches Probenkissen, wiederum mit dem Konjugatkissen überlappt, vervollständigt die Vorrichtung.

Vollblut- oder Serumproben (~20 µl) werden auf das Probenfeld gegeben. Enthält die Probe Autoantikörper gegen MCV oder den Fc-Teil von humanem Immunglobulin, so binden diese an die auf der Nitrozellulosemembran fixierten Antigene. Nach Zugabe von ca. 6 Tropfen Probenpuffer (20 mM Tris, 0.01 % Natriumazid, 250 mM NaCl, 0.05 % Tween 20) auf das Pufferfeld wandern Anti-MCV-Autoantikörper und Rheumafaktoren durch Kapillarkräfte die Nitrozellulosemembran entlang. An den Testlinien binden sie an die Autoantigene. Das durch Pufferzugabe resuspendierte antihumane-IgG-Gold-Konjugat wandert zu den Antigen-Antikörper-Komplexen und bindet an diese. Ist die Konzentration des Antikörpersandwiches hoch genug, werden die Goldpartikel als rote Linie sichtbar. Unspezifische Antikörper wandern zur Kontrolllinie, binden an das dort aufgetragene Protein L und werden ebenfalls durch Bindung des antihumanen-IgG-Gold-Konjugates sichtbar. Die Farbbildung ist für beide Reaktionen nach etwa 10 - 15 Minuten abgeschlossen. Als Positivkontrolle für das neu entwickelte Testsystem dienten verschiedene Seren von RA-Patienten, die bereits mittels ELISA untersucht worden waren. Als Negativkontrolle wurde das weder Anti-MCV-Ak noch RF enthaltene Serum eines gesunden Probanden genutzt.

### 3.5.3 Probenmaterial

Der Schnelltest ist für die Verwendung von Kapillar-Vollblut bestimmt. Es ist aber auch möglich, venöses Vollblut und Serum zu verwenden.

### 3.5.4 Testdurchführung

Die Testkomponenten sollten zum Zeitpunkt der Benutzung Raumtemperatur haben. Alle Testkomponenten müssen vorhanden sein: Automatik-Lanzette, Alkohol getränkter Tupfer, Kapillarröhrchen, Probenpuffer, Inkubationsgefäß und Teststreifen. Die genaue Anleitung zur Testdurchführung ist in Tabelle 7 ausgeführt.

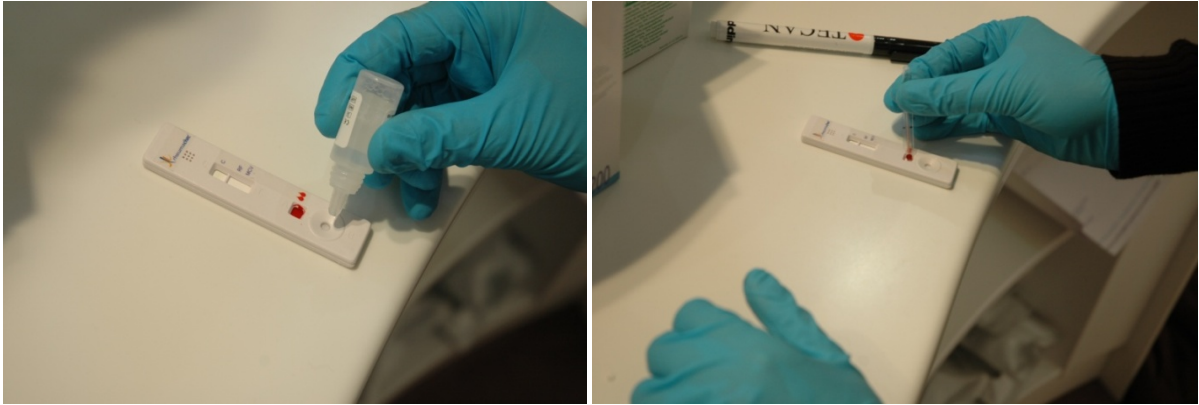


Abbildung 6. Durchführung Schnelltest

Tabelle 7. Anleitung zur schrittweisen Testdurchführung

- 1 Füllen des Inkubationsgefäßes mit Probenpuffer bis zur Markierung
- 2 Massieren der Fingerspitze zur Steigerung des Blutflusses
- 3 Desinfektion der Punktionsstelle mit einem alkoholgetränkten Tupfer
- 4 Druck der Automatik-Lanzette mit der geöffneten Seite gegen die desinfizierte Fingerspitze, so dass Stechhilfe ausgelöst wird
- 5 Druckausübung auf Fingerspitze, bis sich ein Blutstropfen bildet
- 6 Entnahme eines Kapillarröhrchens
- 7 Kapillarröhrchen horizontal in den Blutstropfen halten, bis es etwa zur Hälfte gefüllt ist
- 8 Kapillarröhrchen auf das markierte Probenfeld halten und zirka 30 Sekunden warten
- 9 Teststreifen in das mit Probenpuffer gefüllte Inkubationsgefäß stellen
- 10 Testauswertung nach 10 - 15 Minuten. Spätere Auswertungen sind nicht verwertbar und müssen mit einer neuen Testeinheit getestet werden

### 3.5.5 Testauswertung

Die Beurteilung erfolgt nach 10 - 15 Minuten. Zuerst wird überprüft, ob sich der Kontrollstreifen verfärbt hat, der eine korrekte Testdurchführung anzeigt. Anschließend wird beurteilt, ob sich die MCV-Linie und/oder die RF-Linie ebenfalls verfärbt haben. Verfärbung bedeutet ein positives, keine Verfärbung bedeutet ein negatives Ergebnis. Der Cut-off-Wert für Anti-MCV-Antikörper beträgt 40 U/ml, für RF IgG 30 U/ml.



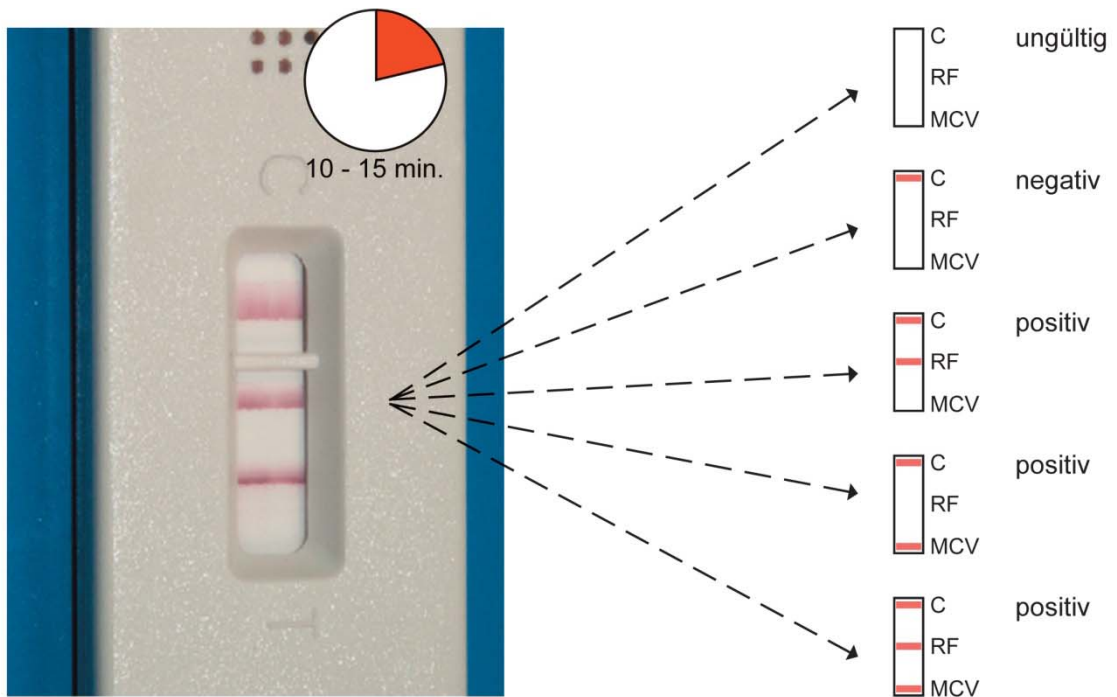


Abbildung 7. Testauswertung

Legende: C= Kontrolllinie; RF= Rheumafaktor IgG; MCV= Mutiertes citrulliniertes Vimentin

### 3.6 Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern und Rheumafaktor IgG mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

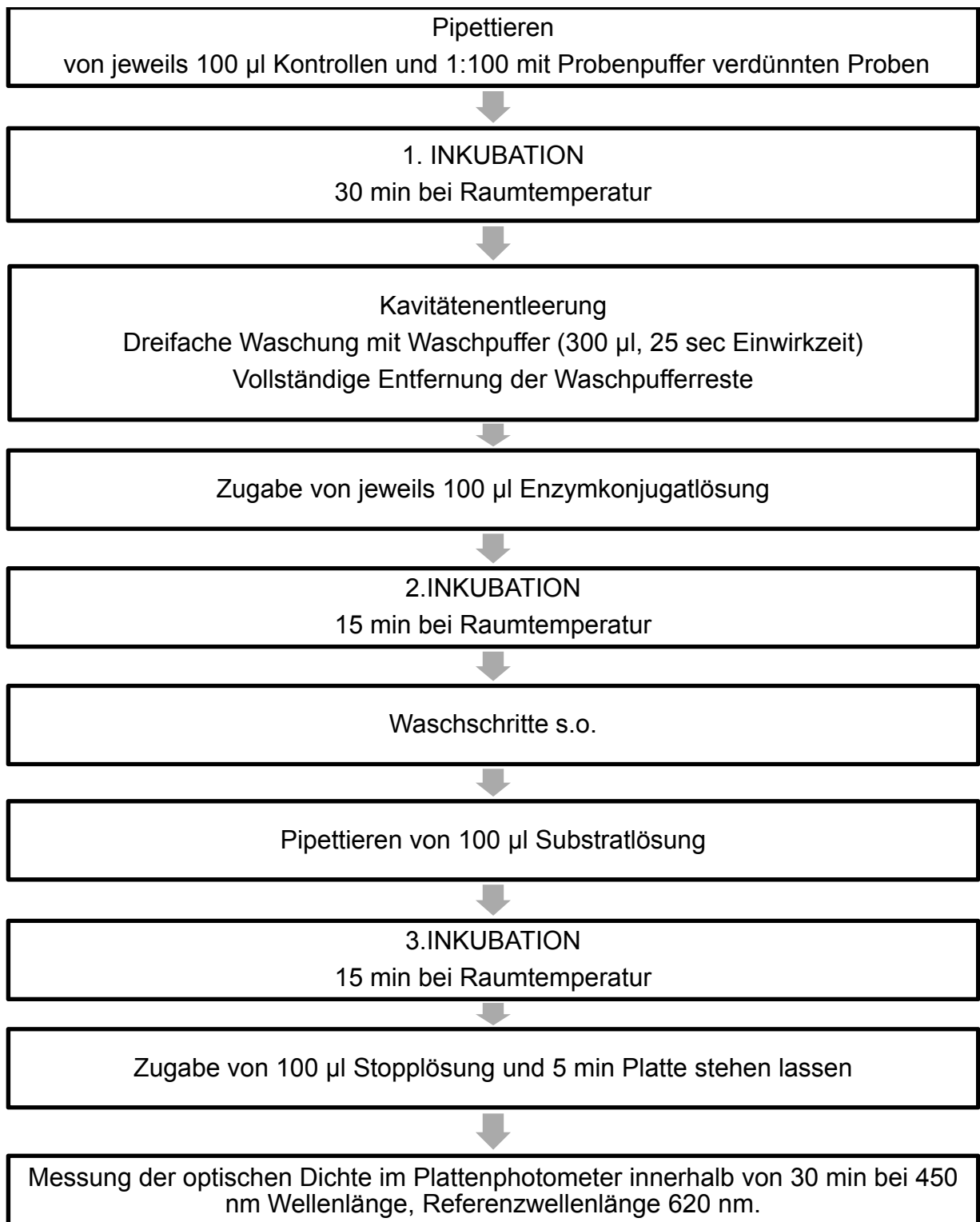
Die quantitative Bestimmung der Anti-MCV-Antikörper und der Rheumafaktor IgG erfolgte mittels kommerzieller ELISA-Kits (Orgentec, Mainz, Deutschland).

#### 3.6.1 Anti-MCV-Ak-ELISA

##### 3.6.1.1 Funktionsweise des ELISA

Der Anti-MCV ELISA ist ein indirekter Enzymimmunoassay zum quantitativen Nachweis von Antikörpern gegen mutiertes citrulliniertes Vimentin. Die Kavitäten der Mikrotiterplatte sind mit MCV beschichtet. Im Serum vorhandene Antikörper können an die immobilisierten Antigene binden. Durch Waschen werden nicht gebundene Serum-Antikörper entfernt. Enzymmarkierte Detektions-Antikörper (HRP-konjugierte Anti-human IgG-Antikörper) heften sich anschließend an die oberflächengebundenen Autoantikörper. Überschüssige Detektionsantikörper werden durch Waschen entfernt. Ein Enzymsubstrat wird in Anwesenheit von gebundenen Detektionsantikörpern zu einem blauen Reaktionsprodukt hydrolysiert. Die Zugabe von Säure stoppt die Reaktion und das Reaktionsprodukt verfärbt sich gelb. Die Intensität der Gelbfärbung kann photometrisch bei 450 nm bestimmt werden. Die Farbentwicklung ist direkt proportional zur Autoantikörperkonzentration.

## 3.6.1.2 Assaydurchführung



Fließschema zur Durchführung des Anti-MCV-Ak-ELISA

### 3.6.1.3 Auswertung

Eine Standardkurve erhält man durch Auftragen der gemessenen optischen Dichte gegen die vorgegebene Standardkonzentration. Der Referenzbereich für Anti-MCV-Antikörper wurde von 0-20 U/ml festgelegt.

## 3.6.2 Rheumafaktor IgG-ELISA

### 3.6.2.1 Funktionsweise des ELISA

Der RF-IgG ELISA ist ein indirekter Enzymimmunoassay zum quantitativen Nachweis von Rheumafaktoren der Immunglobulinklasse G. Die Kavitäten der Mikrotiterplatte sind mit Fc-Fragmenten aus humanem Immunglobulin G beschichtet. Im Serum vorhandene Antikörper können an die immobilisierten Antigene binden. Durch Waschen werden nicht gebundene Serum-Antikörper entfernt. Enzymmarkierte Detektionsantikörper (HRP-konjugierte-anti-humane-IgG-Antikörper) heften sich anschließend an die oberflächengebundenen Autoantikörper. Überschüssige Detektionsantikörper werden durch Waschen entfernt. Ein Enzymsubstrat wird in Anwesenheit von gebundenen Detektionsantikörpern zu einem blauen Reaktionsprodukt hydrolysiert. Die Zugabe von Säure stoppt die Reaktion und das Reaktionsprodukt verfärbt sich gelb. Die Intensität der Gelbfärbung kann photometrisch bei 450 nm bestimmt werden. Die Farbentwicklung ist direkt proportional zur gesuchten Autoantikörper-Konzentration.

### 3.6.2.2 Assaydurchführung

Die Assaydurchführung erfolgt analog zum Fließschema unter 3.6.1.2.

### 3.6.2.3 Auswertung

Eine Standardkurve erhält man durch Auftragen der gemessenen optischen Dichte gegen die vorgegebene Standardkonzentration. Im Rahmen einer umfangreichen Normbereichsstudie wurde für den Rheumafaktor IgG ELISA ein Referenzbereich von 0-20 U/ml ermittelt. Die Auswertung erfolgt computergestützt mit einem Mikrotiterplattenreader.

### 3.7 Statistische Analysen

Die Mittelwerte und Standardabweichungen wurden für die vorliegenden Parameter in den jeweiligen Gruppen berechnet. Die Mittelwert- und Standardabweichungsberechnung wurde mit Hilfe des Programmes Microsoft Office Excel Version 2007 durchgeführt. Die Vierfelder- bzw. Mehrfeldertafeln, die in Kapitel 4 dargestellt sind, beruhen auf den in Tabellen 8 und 9 dargestellten Beispielen.

Tabelle 8. Vierfeldertafel zu Grundbegriffen bei diagnostischen Tests, in Bezug auf die Diagnose

		Wirkliche Situation		Gesamt
		Krankheit vorhanden	Krankheit nicht vorhanden	
Testergebnis	POCT Test positiv	richtigpositiv (RP)	falschpositiv (FP)	RP+FP (Testpositive)
	Test negativ	falschnegativ (FN)	richtignegativ (RN)	FN+RN (Testnegative)
Gesamt		RP+FN (Kranke)	FP+RN (Gesunde)	$n=RP+FP+FN+RN$

Tabelle 9. Vierfeldertafel in Bezug auf das Standardtestverfahren

		Standard-Testverfahren (ELISA)		Gesamt
		Marker nachweisbar	Marker nicht nachweisbar	
Testergebnis	neues Testverfahren (POCT) Test positiv	richtigpositiv (RP)	falschpositiv (FP)	RP+FP
	Test negativ	falschnegativ (FN)	richtignegativ (RN)	FN+RN
Gesamt		RP+FN	FP+RN	$n=RP+FP+FN+RN$

Die Spezifität beschreibt den Anteil negativer Testergebnisse unter den Gesunden, bzw. in der vorliegenden Arbeit unter den nicht an einer seropositiven RA erkrankten Probanden. Die Sensitivität beschreibt den Anteil positiver Testergebnisse unter den erkrankten Probanden, in der vorliegenden Arbeit an Patienten mit seropositiver RA. Die Berechnung von Sensitivität und Spezifität in Bezug auf Diagnose (Tabelle 8) und auf das Standardverfahren ELISA (Tabelle 9) erfolgte mittels folgender Formeln (Buettner 1989):

$$\text{Sensitivität} = \text{RP} / (\text{RP} + \text{FN})$$

$$\text{Spezifität} = \text{RN} / (\text{RN} + \text{FP}).$$

Die Sensitivität wurde innerhalb der RA-Patientengruppe berechnet, für die Berechnung der Spezifität wurden entsprechend die Kontrollgruppe mit rheumatologischen Erkrankungen und Blutspendergruppe zusammengefasst.

Die Prävalenz beschreibt den Anteil Erkrankter an der Grundgesamtheit. Demzufolge berechnet sich die Prävalenz nach der Formel:

$$\text{Prävalenz} = (\text{RP} + \text{FN}) / n$$

In dieser Arbeit wurde der Anteil an seropositiven RA-Patienten am Kollektiv der Patienten, d.h. der RA-Patienten und Kontrollpatienten, als Prävalenz eingesetzt.

Unter dem positiven prädiktiven Wert (PPW) versteht man den Voraussagewert eines positiven Tests: der Anteil an tatsächlich Erkrankten unter den Personen mit einem positiven Testergebnis. Entsprechend versteht man unter dem negativen prädiktiven Wert (NPW) den Voraussagewert eines negativen Tests: der Anteil der Gesunden unter den Personen mit einem negativen Testergebnis.

Für die Berechnung des positiven und negativen prädiktiven Wertes wurden folgenden Formeln verwendet (Sachs 1999):

$$\text{PPW} = [(\text{Präv}) \times (\text{Sens})] / [(\text{Präv}) \times (\text{Sens}) + (1 - \text{Präv}) \times (1 - \text{Spez})]$$

$$\text{NPW} = [(1 - \text{Präv}) \times (\text{Spez})] / [(1 - \text{Präv}) \times (\text{Spez}) + (\text{Präv}) \times (1 - \text{Sens})]$$

## 4 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt 430 Probanden untersucht. In den Kapillar- und Vollblutproben der 108 Patienten mit bisher seropositiver RA, 122 Patienten der Kontrollgruppe mit verschiedenen rheumatologischen Erkrankungen sowie 200 gesunden Blutspendern wurden Anti-MCV-Antikörper und Rheumafaktor IgG mittels POCT und ELISA bestimmt.

### 4.1 Ergebnisse des POCT

Die Tabellen 10, 11 und 12 geben die Ergebnisse der Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern und Rheumafaktor IgG mittels POCT wieder.

Tabelle 10: Ergebnisse des POCT für Anti-MCV-Ak und RF IgG in Bezug auf Diagnose RA

		Seropositive/anti-MCV-pos. RA vorhanden	Seropositive/anti-MCV pos. RA nicht vorhanden	Gesamt
Testergebnis	Anti-MCV-Ak positiv	59	3	62
	Anti-MCV-Ak negativ	49	319	368
	RF IgG positiv	61	26	87
	RF IgG negativ	47	296	343
	Gesamt	108	322	430

Tabelle 11: Ergebnisse des POCT für Anti-MCV-Ak und RF IgG

<b>POCT</b>	<b>Anti-MCV-Ak</b>	<b>RF IgG</b>
<b>positiv (n)</b>	62	87
<b>negativ (n)</b>	368	343
<b>Sensitivität bzgl. Diagnose (%)</b>	54,6	56,5
<b>Spezifität bzgl. Diagnose (%)</b>	99,1	91,2
<b>PPW bzgl. Diagnose (%)</b>	100	
<b>NPW bzgl. Diagnose (%)</b>	71,3	
<b>Sensitivität bzgl. ELISA (%)</b>	69,3	55,6
<b>Spezifität bzgl. ELISA (%)</b>	99,7	97,2

#### 4.1.1 Ergebnisse des POCT für Anti-MCV-Ak

Positive Anti-MCV-Ak POCT Ergebnisse wurden bei 59 Patienten der RA-Gruppe (54,6 %) und drei Blutspendern (1,5 %) gefunden. Tabelle 9 zeigt 62 positive Ergebnisse, dies entspricht einem Anteil von 14,4 % (62 von 430). Alle Kontrollpatienten, 49 RA-Patienten (45,4 %) und 197 Blutspender (98,5 %) wiesen ein negatives Ergebnis auf. Dies führt zu 368 negativen Resultaten entsprechend einem Anteil von 85,6 % (368 von 430). Die Sensitivität des POCT in Bezug auf die Diagnose RA liegt bei 54,6%, die Spezifität bei 99,1 %. Der positive prädiktive Wert des POCT in Bezug auf die Diagnose RA liegt bei 100 %, der negative prädiktive Wert bei 71,3 %. Bezogen auf die Ergebnisse des ELISA ergaben sich eine Sensitivität von 69,3 % und eine Spezifität von 99,7 %.

#### 4.1.2 Ergebnisse des POCT für RF IgG

Positive RF IgG POCT Resultate lagen bei 61 RA-Patienten (56,5 %), 10 Kontrollpatienten (8,2 %) und 16 Blutspendern (8 %) vor. Ein negatives Ergebnis zeigte sich bei 47 RA-Patienten (43,5 %), 112 Kontrollpatienten (91,8 %) und 184 (92 %) Blutspendern. Die Sensitivität des POCT in Bezug auf die Diagnose RA liegt bei 56,5 %, die Spezifität bei 91,2 %. In Bezug auf die Ergebnisse des ELISA zeigte sich eine Sensitivität von 55,6 % und eine Spezifität von 97,2 %.

#### 4.1.3 Gesamtergebnis des POCT (Anti-MCV-Ak und RF IgG kombiniert)

Tabelle 12. Übersicht Ergebnisse des POCT in den einzelnen Gruppen für Anti-MCV-Ak und RF IgG

<b>Ergebnis</b>	<b>RA-Gruppe</b>	<b>Kontroll- gruppe</b>	<b>Blut- spender</b>	<b>gesamt</b>
<b>MCV + RF +</b>	46	0	3	49
<b>MCV + RF -</b>	13	0	0	13
<b>MCV - RF +</b>	15	10	13	38
<b>MCV - RF -</b>	34	112	184	330
<b>gesamt</b>	108	122	200	430

#### 4.2 Ergebnisse des ELISA

Tabelle 13 zeigt die ELISA-Ergebnisse der Bestimmung von Anti-MCV-Ak und RF IgG.

Tabelle 13. Ergebnisse des ELISA für Anti-MCV-Ak und RF IgG aller Probandengruppen

<b>ELISA</b>	<b>Anti-MCV-Ak</b>	<b>RF IgG</b>
<b>positiv</b>	88	142
<b>negativ</b>	342	288

##### 4.2.1 Ergebnisse des ELISA für Anti-MCV-Ak

Der Anti-MCV-Ak ELISA war bei 81 RA-Patienten (75 %), vier Kontrollpatienten (3,3 %) und drei Blutspendern (1,5 %) positiv, dies ergibt 88 positive Ergebnisse entsprechend einem Anteil von 20,5 % (88 von 430). 118 Patienten der Kontrollgruppe wiesen ein negatives Anti-MCV Ergebnis auf (96,7 %), so auch 27 RA- Patienten (25 %) und 197 Blutspender (98,5 %). Insgesamt waren 342 Proben im ELISA negativ, das sind 79,5 % (342 von 430).



#### 4.2.2 Ergebnisse des ELISA für RF IgG

Ein positiver RF IgG ELISA lag bei 90 RA-Patienten (83,3 %), 35 Kontrollpatienten (28,7 %) und 17 Blutspendern (8,5 %) vor. Ein negatives Ergebnis ließ sich bei 18 Patienten (16,7 %) der RA-Gruppe, 87 Patienten (71,3 %) der Kontrollgruppe und 183 (91,5 %) Blutspendern nachweisen.

#### 4.3 Vergleich der Testverfahren POCT und ELISA

##### 4.3.1 Vergleich der Testverfahren für die Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern

Tabelle 14. Zwölfeldertafel für Anti-MCV-Ak in POCT und ELISA

		MCV ELISA		
		positiv	negativ	gesamt
positiv	RA-Gruppe	58	1	59
	Kontrollgruppe	0	0	0
	Blutspender	3	0	3
negativ	RA-Gruppe	23	26	49
	Kontrollgruppe	4	118	122
	Blutspender	0	197	197
		81	27	108
		4	118	122
Gesamt		3	197	200

402 der 430 Ergebnisse stimmten in POCT und ELISA überein, das sind 93 %.

#### 4.3.1.1 Vergleich der Testverfahren für Anti-MCV-Ak in der RA-Gruppe

Die Ergebnisse von POCT und ELISA bezüglich der Bestimmung von Anti-MCV-Ak in der RA-Gruppe sind in den Tab. 15 und 16 sowie in den Abb. 8 bis 11 dargestellt.

Tabelle 15. Vierfeldertafel: RA-Gruppe. Ergebnisse Anti-MCV-Ak in POCT und ELISA

		MCV ELISA		
POCT		positiv	negativ	gesamt
positiv	58	1	59	
negativ	23	26	49	
gesamt	81	27	108	

Den 59 positiven POCT-Ergebnissen standen 58 (98,3 %) positive ELISA-Ergebnisse gegenüber. Die im ELISA negative Probe hatte einen Wert von 31,8 U/ml. Von 49 negativen POCT-Ergebnissen waren 26 (53,1 %) auch im ELISA negativ. Die Antikörperkonzentration der 23 im POCT negativen Proben reichte von 45,7 bis 867,2 U/ml; siehe Tabelle 14. In der RA-Gruppe ergab sich demzufolge eine Übereinstimmung der Ergebnisse von 78 % (84 von 108).

Tabelle 16. RA-Gruppe. Darstellung falschnegativer Anti-MCV-Ak-POCT Ergebnisse mit entsprechendem ELISA-Ergebnis

Pat.	POCT	ELISA U/ml	Pat.	POCT	ELISA U/ml
137	neg.	45,7	89	neg.	126,6
220	neg.	45,9	190	neg.	183,1
158	neg.	52,5	246	neg.	208,4
117	neg.	60,8	45	neg.	215,2
139	neg.	67,5	69	neg.	217,1
232	neg.	69,5	188	neg.	235,1
94	neg.	82,2	1	neg.	259
157	neg.	91,8	153	neg.	279,1
244	neg.	98,1	112	neg.	370,2
130	neg.	105,1	162	neg.	411,2
58	neg.	109,8	165	neg.	867,2
187	neg.	126,2			

#### 4.3.1.2 Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA

Die Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA erfolgte nach den Kriterien Antikörperkonzentration, Geschlecht, Alter des Patienten und Erkrankungsdauer. Die entsprechenden Resultate sind in den Abbildungen 8 bis 11 dargestellt.

##### 4.3.1.2.1 Antikörperkonzentration

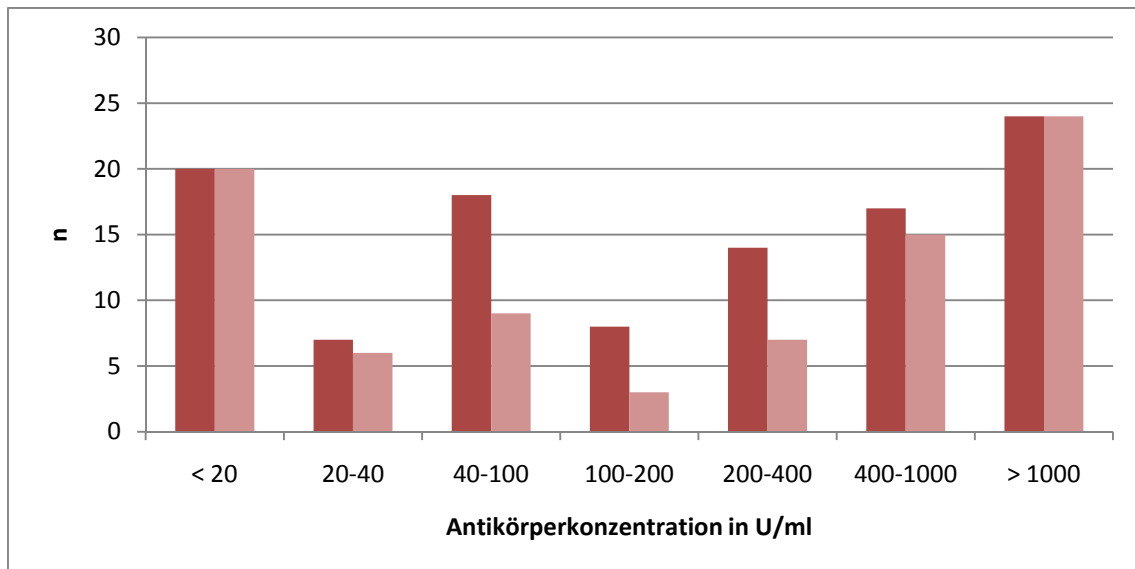


Abbildung 8. RA-Gruppe. Darstellung der Übereinstimmung der Anti-MCV-Ergebnisse in POCT und ELISA, nach Konzentration in U/ml. *Dunkelrot*: Anzahl der ELISA-Ergebnisse. *Hellrot*: Anzahl der in POCT und ELISA übereinstimmenden Proben.

In den Bereichen <20 U/ml und  $\geq 1000$  U/ml korrelierten alle Ergebnisse, zwischen 400-1000 U/ml und 20-40 U/ml ergaben sich 88,2 % respektive 85,7 % Übereinstimmung. Die mittleren Bereiche 40-100 U/ml, 100-200 U/ml und 200-400 U/ml wiesen Übereinstimmungen von 50 %, 37,5 % und 50 % auf.

#### 4.3.1.2.2 Patientengeschlecht

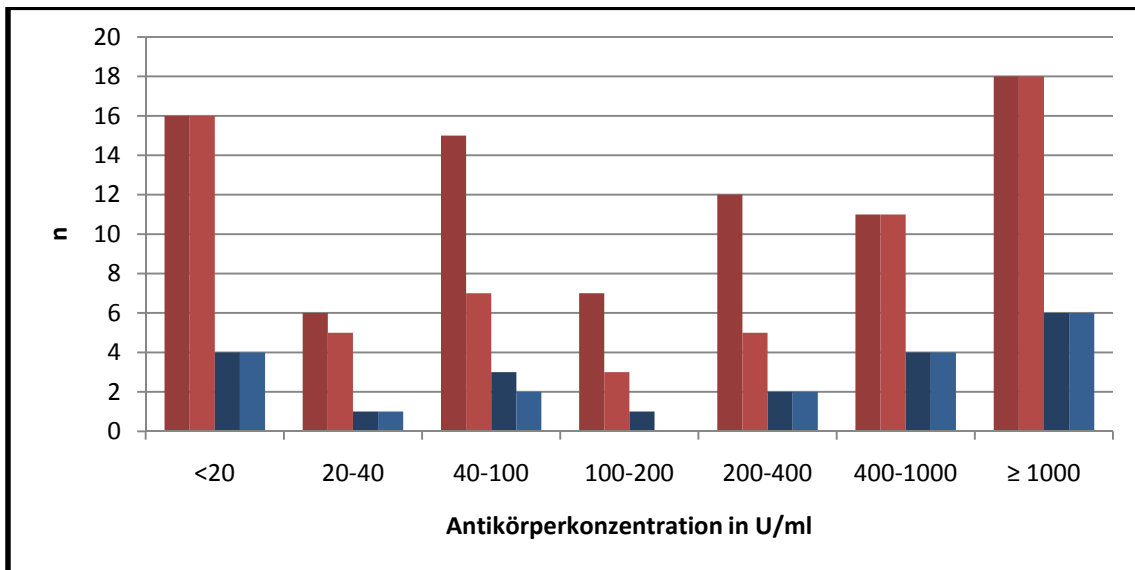


Abbildung 9. RA-Gruppe. Geschlechtsspezifische Darstellung der Übereinstimmung der Anti-MCV-Ergebnisse in POCT und ELISA nach U/ml. *Dunkelrot*: Anzahl der ELISA- Ergebnisse der Frauen. *Hellrot*: Anzahl der Übereinstimmung der Ergebnisse in POCT und ELISA der Frauen. *Dunkelblau*: Anzahl der ELISA- Ergebnisse der Männer. *Hellblau*: Anzahl der Übereinstimmung der Ergebnisse in POCT und ELISA der Männer.

Insgesamt befanden sich 87 (80,5 %) Frauen in der Gruppe der RA-Patienten. In den 87 Blutproben war der POCT in 45 Fällen (51,7 %) positiv, in 42 Fällen (48,3 %) negativ. Im ELISA zeigten sich 65 (74,7 %) positive und 22 (25,3 %) negative Proben. Die Bestätigung der im POCT positiven Ergebnisse durch den ELISA erfolgte zu 97,8 %. Die 42 negativen POCT-Ergebnisse stehen 21 positiven und 21 negativen ELISA Resultaten gegenüber. Die Übereinstimmung lag in den Bereichen <20 U/ml und ≥1000 U/ml bei 100 %, nachfolgend 400-1000 U/ml und 20-40 U/ml mit 84,6 % und 83,3 %. In den Bereichen 20-40 U/ml, 100-200 U/ml und 200-400 U/ml war die Übereinstimmung mit jeweils 46,6 %, 42,8 % und 41,6 % am geringsten.

Unter den 21 (19,5%) Blutproben der Männer war der POCT in 14 (66,7 %) Fällen positiv und in 7 Fällen negativ. Der ELISA zeigte 16 (76,2 %) positive und 5 (23,8 %) negative Proben. Alle positiven POCT-Resultate wurden durch den ELISA bestätigt. Sieben im POCT negative Proben führten zu fünf im ELISA ebenfalls negativen und zwei positiven Ergebnissen. Bis auf die Bereiche 40-100 U/ml (Übereinstimmung 66,7 %) und 100-200 U/ml (keine Übereinstimmung) stimmten alle Ergebnisse des POCT mit denen des ELISA überein.

## 4.3.1.2.3 Patientenalter

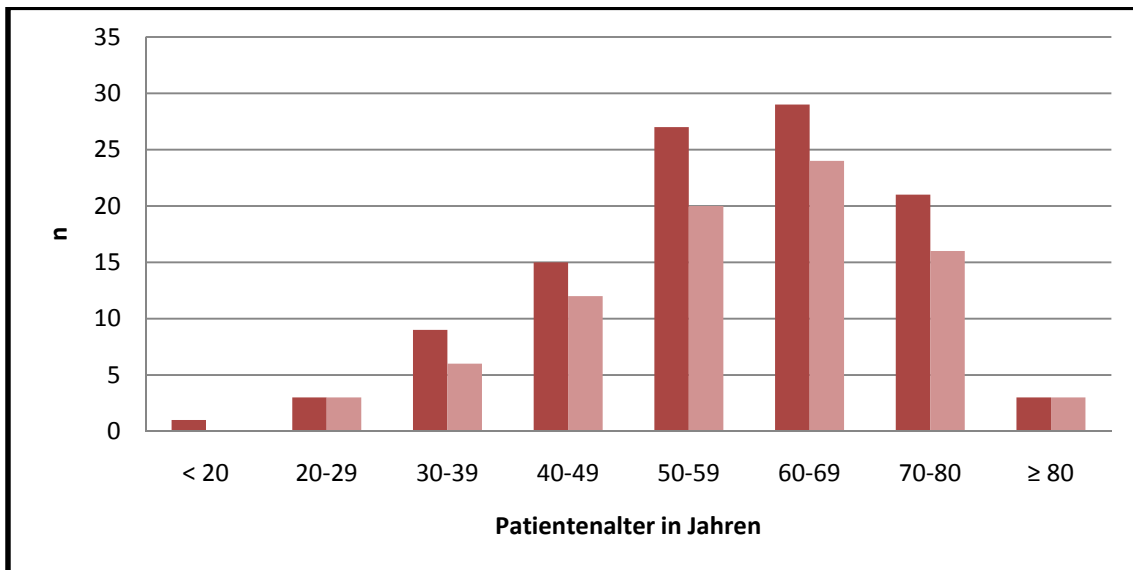


Abbildung 10. RA-Gruppe. Darstellung der Übereinstimmung der Anti-MCV-Ergebnisse in POCT und ELISA nach Patientenalter. *Dunkelrot*: Anzahl der Patienten in der jeweiligen Altersklasse. *Hellrot*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse in POCT und ELISA.

Die Übereinstimmung von POCT und ELISA bezüglich des Patientenalters ergab unter 20 Jahren 0 %, zwischen 20 - 29 Jahren 100 %, zwischen 30 - 39 Jahren 66,7 %, zwischen 40 - 49 Jahren 80 %, zwischen 50 - 59 Jahren 74 %, zwischen 60 - 69 Jahren 83 %, zwischen 70 - 79 Jahren 76 % und über 80 Jahren 100 %.

#### 4.3.1.2.4 Erkrankungsdauer

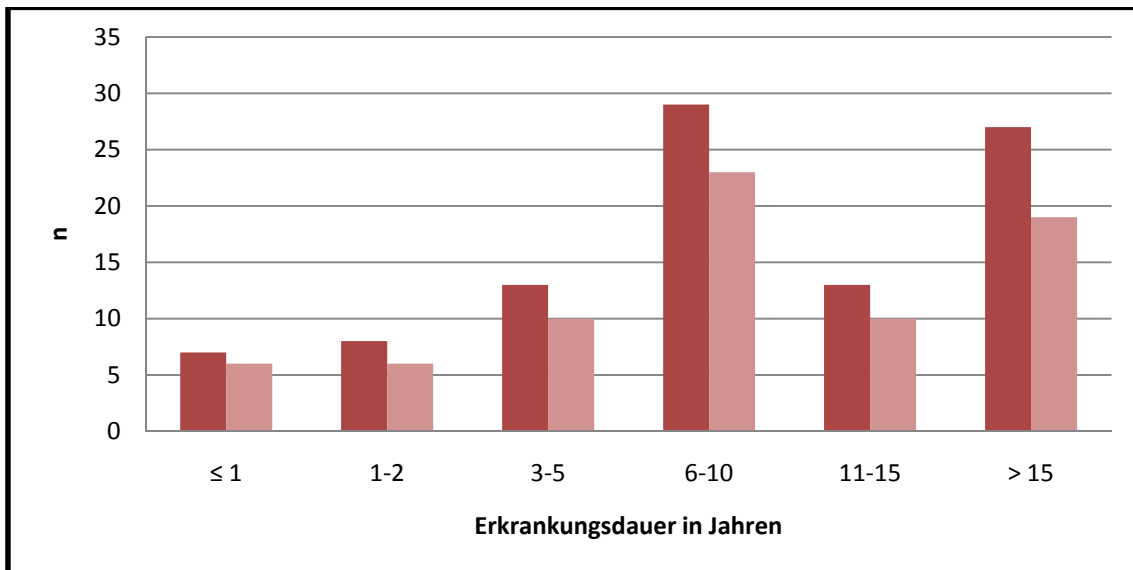


Abbildung 11. RA-Gruppe. Darstellung der Übereinstimmung der Anti-MCV-Ergebnisse in POCT und ELISA nach Erkrankungsdauer. *Dunkelrot*: Anzahl der Patienten. *Hellrot*: Anzahl der Übereinstimmung der Ergebnisse in POCT und ELISA.

Angaben zur Erkrankungsdauer lagen bei 97 Patienten der RA Gruppe vor. Bei einer Krankheitsdauer bis zu einem Jahr stimmten POCT- und ELISA-Ergebnisse zu 85,7 % überein, zwischen 1-2 Jahren zu 75 %, zwischen 2-5 Jahren zu 77 %, zwischen 6-10 Jahren zu 79 %, zwischen 11-15 Jahren zu 77 % und mehr als 15 Jahre zu 70 %.

#### 4.3.1.3 Vergleich der Testverfahren für Anti-MCV-Ak in der Kontrollgruppe

Tabelle 17. Vierfeldertafel: Kontrollgruppe. Ergebnisse für Anti-MCV-Ak in POCT und ELISA

POCT	Anti-MCV-Ak ELISA		
	positiv	negativ	
positiv	0	0	0
negativ	4	118	122
gesamt	4	118	122

Neben 118 übereinstimmenden Ergebnissen korrelierten vier Proben nicht in POCT und ELISA, das ergibt eine Übereinstimmung von 97 %.

##### 4.3.1.3.1 Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA für Anti-MCV-AK

Diese vier Proben wurden hinsichtlich Antikörperkonzentration und Erkrankung betrachtet. Abbildung 12 zeigt die Darstellung nach der Antikörperkonzentration und in Tabelle 18 finden sich die zu den falschnegativen POCT-Ergebnissen gehörigen Diagnosen.

##### 4.3.1.3.2 Antikörperkonzentration

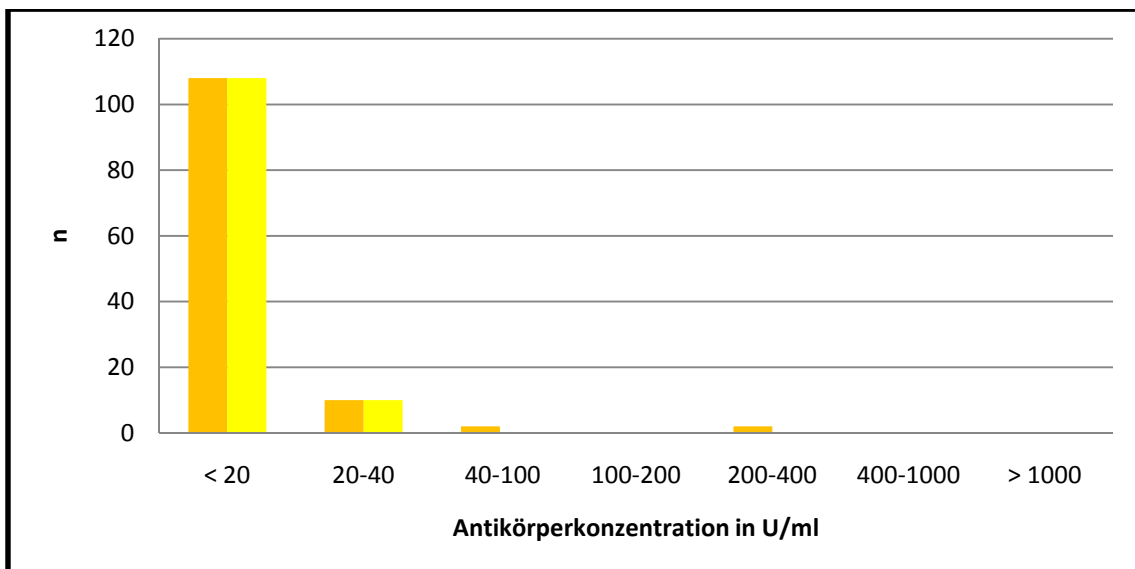


Abbildung 12. Kontrollgruppe. Darstellung der Übereinstimmung der Anti-MCV-Ergebnisse in POCT und ELISA nach U/ml. *Dunkelgelb*: Anzahl der ELISA-Ergebnisse. *Hellgelb*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse zwischen POCT und ELISA.

## 4.3.1.3.3 Diagnose

Tabelle 18. Kontrollgruppe. Diagnosespezifische Darstellung falschnegativer Anti-MCV POCT Ergebnisse

Pat.	Diagnose	POCT	ELISA in U/ml
41	Sjögren-Syndrom	neg.	381,8
95	Arthrose	neg.	68,3
103	Seronegative RA	neg.	40,3
139	Polyarthrose	neg.	232,6

## 4.3.1.4 Vergleich der Testverfahren für Anti-MCV-Ak in der Blutspendergruppe

Tabelle 19. Vierfeldertafel: Blutspender. Ergebnisse Anti-MCV-Ak in POCT und ELISA

POCT	Anti-MCV-Ak ELISA		
	positiv	negativ	gesamt
positiv	3	0	3
negativ	0	197	197
gesamt	3	197	200

Von insgesamt 200 Proben waren 197 im POCT negativ und drei positiv. Der ELISA bestätigte alle Ergebnisse, die Übereinstimmung beträgt demzufolge 100 %.



## 4.3.2 Vergleich der Testverfahren für die Bestimmung von RF IgG

Tabelle 20. Zwölfeldertafel für RF IgG in POCT und ELISA

		RF IgG ELISA		
		positiv	negativ	gesamt
positiv	RA-Gruppe	58	3	61
	Kontrollgruppe	6	4	10
	Blutspender	15	1	16
negativ	RA-Gruppe	32	15	47
	Kontrollgruppe	29	83	112
	Blutspender	2	182	184
		90	18	108
		35	87	122
gesamt		17	183	200

359 der 430 (83%) Ergebnisse stimmten in POCT und ELISA überein.

## 4.3.2.1 Vergleich der Testverfahren für RF IgG in der RA-Gruppe

Tabelle 21. Vierfeldertafel: RA-Gruppe. Ergebnisse RF IgG in POCT und ELISA

POCT	RF IgG ELISA		
	positiv	negativ	gesamt
positiv	58	3	61
negativ	32	15	47
gesamt	90	18	108

Den 61 positiven POCT Ergebnissen standen 90 positive ELISA-Ergebnisse gegenüber. Im Falle eines negativen POCT (n=47) stimmte in 15 Fällen (32 %) der dazugehörige ELISA überein, in 32 Fällen (68 %) nicht. Die 32 positiven ELISA-Proben lagen zwischen 31,2 und 396,2 U/ml, siehe Tab 22. Insgesamt stimmten 73 von 108 Ergebnissen in der RA-Gruppe überein, das sind 67,6 %.

Tabelle 22. RA-Gruppe. Darstellung falschnegativer RF IgG-POCT-Ergebnisse mit entsprechendem ELISA-Ergebnis

Pat.	POCT	ELISA U/ml	Pat.	POCT	ELISA U/ml
194	neg.	31,2	50	neg.	55,0
261	neg.	31,9	4	neg.	71
45	neg.	34,5	249	neg.	75,4
220	neg.	34,5	58	neg.	77,7
162	neg.	35,1	159	neg.	82,4
165	neg.	35,8	42	neg.	103,0
117	neg.	35,8	64	neg.	136,8
188	neg.	37,9	149	neg.	141,8
139	neg.	37,9	153	neg.	161,6
232	neg.	40,1	100	neg.	173,2
137	neg.	41,6	78	neg.	177,1
235	neg.	43,2	154	neg.	202,2
130	neg.	48,0	102	neg.	244,0
94	neg.	51,4	8	neg.	249
35	neg.	53,2	63	neg.	325,8
2	neg.	54	112	neg.	396,2

#### 4.3.2.2 Analyse der Übereinstimmung von POCT und ELISA für RF IgG

Die Betrachtung der Übereinstimmung von POCT und ELISA erfolgte nach den Kriterien Antikörperkonzentration, Patientengeschlecht, Patientenalter und Erkrankungsdauer; dies ist in den Abbildungen 13 bis 16 dargestellt.

##### 4.3.2.2.1 Antikörperkonzentration

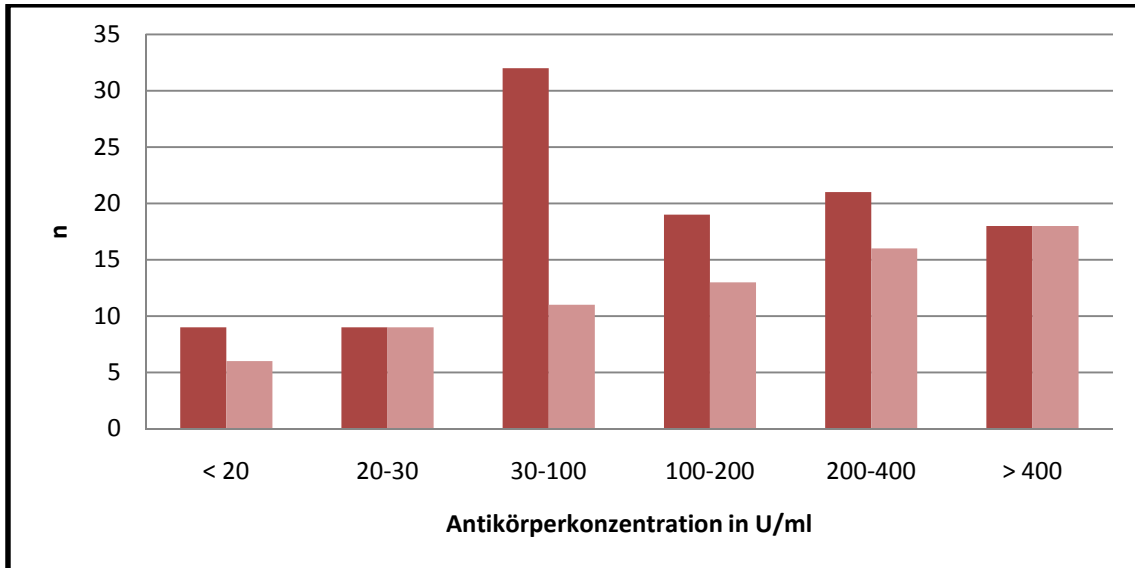


Abbildung 13: RA-Gruppe. Darstellung der Übereinstimmung der RF IgG-Ergebnisse in POCT und ELISA nach U/ml. *Dunkelrot*: Anzahl der ELISA-Ergebnisse. *Hellrot*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse zwischen POCT und ELISA.

Die größte Übereinstimmung zwischen POCT und ELISA fand sich mit 100 % in den Bereichen zwischen 20-30 U/ml und 400-1000 U/ml, nachfolgend 76 % für 200-400 U/ml und 68 % bzw. 66,6 % in den Bereichen 100-200 U/ml und <20 U/ml. Die mit 34 % geringste Übereinstimmung fand sich zwischen 30-100 U/ml.

#### 4.3.2.2.2 Patientengeschlecht

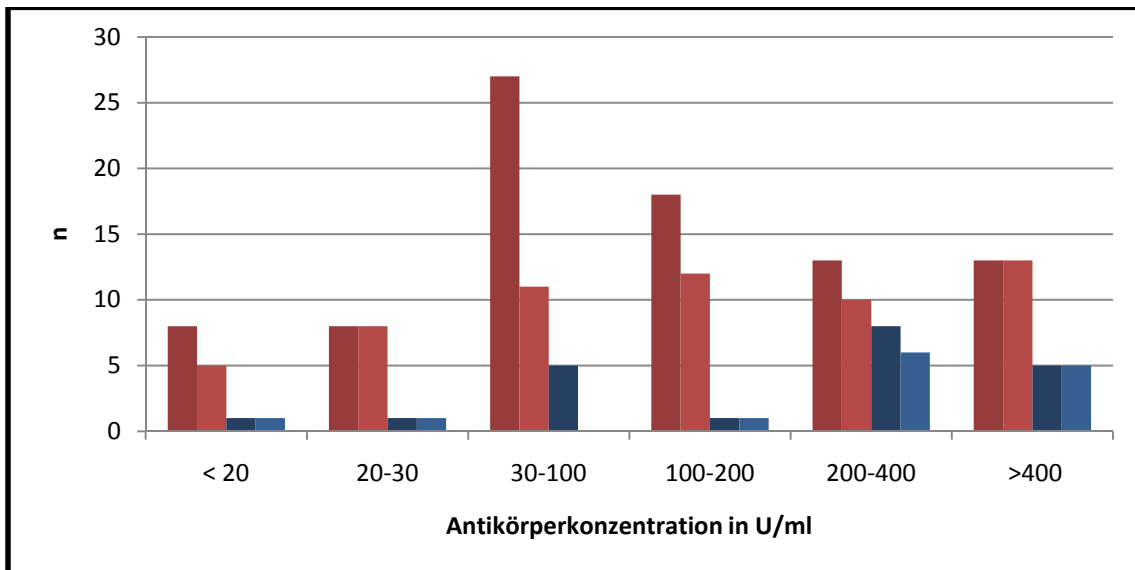


Abbildung 14. RA-Gruppe. Geschlechtsspezifische Darstellung der Übereinstimmung der RF IgG-Ergebnisse in POCT und ELISA nach U/ml. *Dunkelrot*: Anzahl der ELISA- Ergebnisse, Frauen. *Hellrot*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse in POCT und ELISA, Frauen. *Dunkelblau*: Anzahl der ELISA- Ergebnisse, Männer. *Hellblau*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse, Männer.

In Proben der 87 Frauen der RA-Gruppe ergab der POCT 49 (56,3 %) positive und 38 (43,7 %) negative RF IgG-Ergebnisse. Der ELISA lieferte 74 (85,1 %) positive und 13 (14,9 %) negative Resultate. Von den 49 im POCT positiven Ergebnissen konnten 46 (93,8 %) im ELISA bestätigt werden. Von den 38 negativen POCT Ergebnissen konnten 25 (65,8 %) im ELISA bestätigt werden. Die mit 100 % größte Übereinstimmung lag in den Bereichen zwischen 20 und 30 U/ml und 400-1000 U/ml, nachfolgend 200-400 U/ml bei 77%, die Bereiche 30-100 U/ml, 100-200 U/ml und <20 U/ml folgten mit jeweils 68,7 %, 66,6 % und 62,5 %.

In den Proben der 21 Männer zeigte der POCT 12 (57,1 %) positive und 9 (42,8 %) negative Ergebnisse. Per ELISA fanden sich 19 (90,5 %) positive und 2 (9,5 %) negative Ergebnisse. Alle 12 positiven POCT Ergebnisse bestätigten sich im ELISA. Hingegen standen den 9 negativen POCT Resultaten im ELISA nur 2 (22,2 %) gegenüber. Abgesehen von den Bereichen 200-400 U/ml (75 %) und 30-100 U/ml (0 %) korrelierten alle Ergebnisse in POCT und ELISA zu 100 %.

#### 4.3.2.2.3 Patientenalter

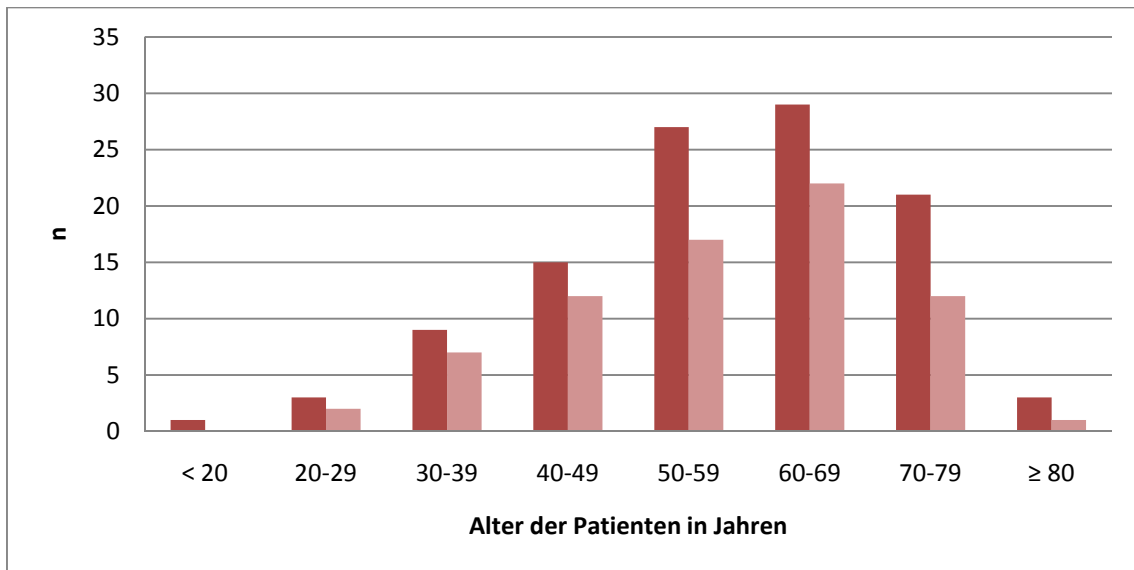


Abbildung 15. RA-Gruppe. Altersspezifische Darstellung der Übereinstimmung der RF IgG-Ergebnisse in POCT und ELISA. *Dunkelrot*: Anzahl der Patienten in der jeweiligen Altersklasse. *Hellrot*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse in POCT und ELISA.

Die Übereinstimmung der Ergebnisse in den jeweiligen Altersklassen gestaltete sich folgendermaßen: unter 20 Jahren 0 %, von 20-29 Jahren 66,6 %, von 30-39 Jahren 78 %, von 40-49 Jahren 80 %, von 50-59 Jahren 63 %, von 60-69 Jahren 76 %, von 70-79 Jahren 57 % und über 80 Jahren 33,3 %.

#### 4.3.2.2.4 Krankheitsdauer

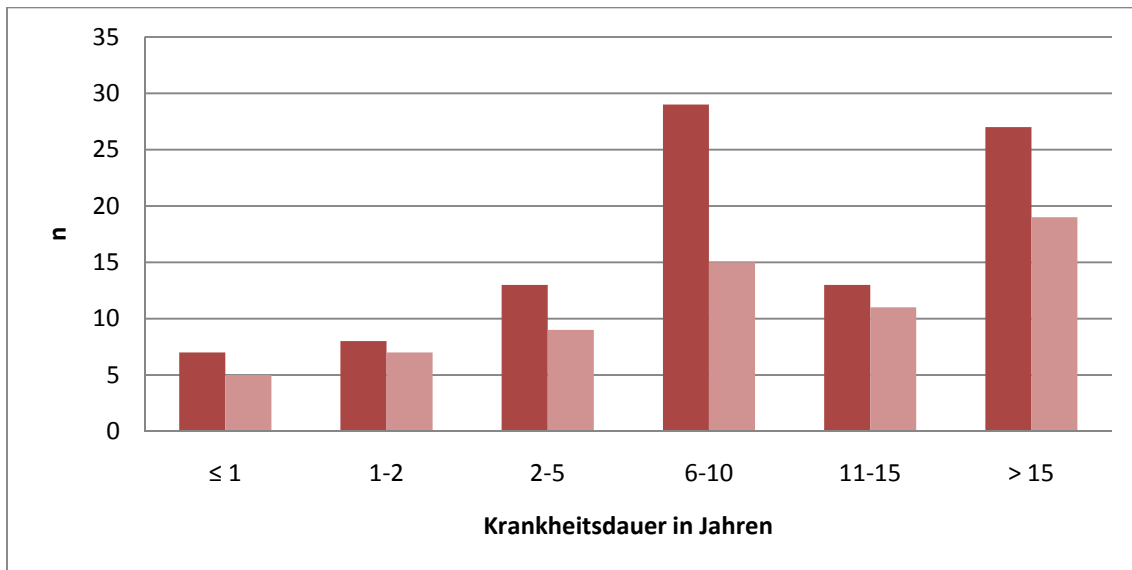


Abbildung 16. RA-Gruppe. Darstellung der Übereinstimmung der RF-IgG-Ergebnisse in POCT und ELISA nach Erkrankungsdauer. *Dunkelrot*: Anzahl der Patienten. *Hellrot*: Anzahl der Übereinstimmung der Ergebnisse in POCT und ELISA.

Angaben zur Erkrankungsdauer lagen bei 97 Patienten der RA Gruppe vor. Bei einer Krankheitsdauer unter einem Jahr stimmten POCT- und ELISA-Ergebnisse zu 71,4 % überein, zwischen 1-2 Jahren zu 87,5 %, zwischen 2-5 Jahren zu 69,2 %, zwischen 6-10 Jahren zu 51,9 %, zwischen 11-15 Jahren zu 84,6 % und mehr als 15 Jahre zu 70,4 %.

#### 4.3.2.3 Vergleich der Testverfahren für die Bestimmung von RF IgG in der Kontrollgruppe

Tabelle 23. Vierfeldertafel: Kontrollgruppe. Ergebnisse für RF IgG in POCT und ELISA

POCT	RF IgG ELISA		
	positiv	negativ	gesamt
positiv	6	4	10
negativ	29	83	112
gesamt	35	87	122

Bei den 122 Kontrollpatienten zeigte der POCT 112 (91,8 %) negative sowie 10 (8,2 %) positive Ergebnisse bezüglich RF IgG. Der ELISA fand 87 (71,3 %) negative sowie 35 (28,7 %) positive Proben. Negative POCT-Ergebnisse wurden in 83 (74,1 %) Fällen vom ELISA bestätigt, positive POCT-Ergebnisse konnten in 6 (60 %) Fällen bestätigt werden, in 4 (40 %) Fällen nicht. Die Gesamtübereinstimmung betrug 73 %.

##### 4.3.2.3.1 Antikörperkonzentration

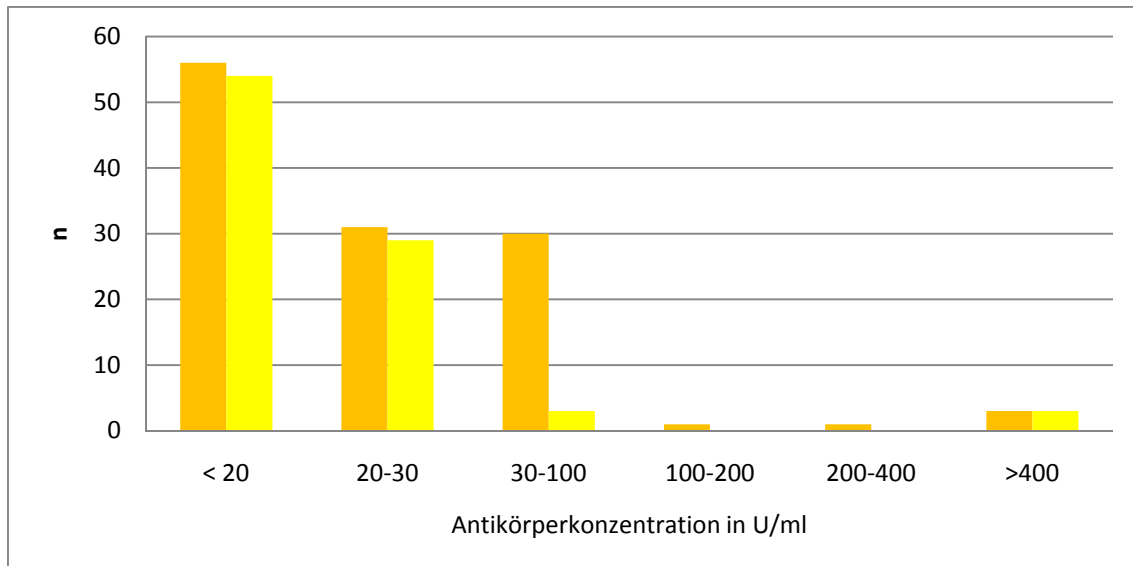


Abbildung 17. Kontrollgruppe. Darstellung der Übereinstimmung der RF IgG-Ergebnisse in POCT und ELISA nach Konzentration in U/ml. *Dunkelgelb*: Anzahl der ELISA- Ergebnisse. *Hellgelb*: Anzahl der übereinstimmenden Ergebnisse zwischen POCT und ELISA.

100 % Übereinstimmung erzielte der Bereich von >400 U/ml, in den Bereichen <20 U/ml und zwischen 20-30 U/ml trat eine Übereinstimmung von 96 % respektive 94 %

auf. Zwischen 30-100 U/ml fand sich lediglich 10 % Übereinstimmung, von 100-200 U/ml und 200-400 U/ml wurde keine Übereinstimmung erzielt.

#### 4.3.2.3.2 Diagnose

Tabelle 24. Kontrollgruppe. Diagnosespezifische Darstellung der Diskrepanz der RF IgG POCT Ergebnisse mit entsprechendem ELISA-Ergebnis.

Pat.	Diagnose	POCT	ELISA in U/ml
128	Arthrose	-	220,1
87	Borreliose	-	41,6
273	CREST-Syndrom	+	19,8
46	Isolierte Uveitis	-	38,6
41	Juvenile RA	-	30,6
269	Ankylosierende	+	24,8
71	Spondylitis	-	32,5
152		-	35,1
83		-	38,6
60		-	40,9
34		-	51,4
67		-	56,8
44	Oligoarthritis	-	38,6
185		-	55,0
183	Polymyalgia	-	37,2
98	rheumatica	-	39,3
179	Polyarthrose	-	30,6
258	Psoriasis-Arthritis	+	11,9
91		-	38,6
49		-	44,7
66		-	48,0
70		-	53,2
134	Seronegative RA	+	23,8
155		-	31,9
84		-	38,6
80		-	53,2
74		-	56,8
163		-	78,8
147		-	52,3
110	Sjögren- Syndrom	-	38,6
108		-	123,8
135	SLE/Sjögren	-	66,7
33	Zöliakie+ Arthritis	-	34,4



#### 4.3.2.4 Vergleich der Testverfahren für RF IgG in der Blutspendergruppe

Tabelle 25. Blutspender. Vierfeldertafel: Ergebnisse für RF IgG in POCT und ELISA

POCT	RF IgG ELISA		
	positiv	negativ	gesamt
positiv	15	1	16
negativ	2	182	184
gesamt	17	183	200

In der Gruppe der 200 Blutspender fand der POCT 16 (8 %) positive und 184 (92 %) negative Proben. Der ELISA fand 17 (8,5 %) positive und 183 (91,5 %) negative Proben. Die 16 positiven POCT-Ergebnisse bestätigten sich in 15 (93,7 %) Fällen im ELISA. Negative POCT-Ergebnisse (n=184) wurden bis auf zwei im ELISA positive Proben zu 98,5 % bestätigt.

## 5 Diskussion

Die rheumatoide Arthritis ist eine chronische, systemische Erkrankung. Die Mehrzahl der Patienten, etwa zwei Drittel, leidet unter einem schweren Verlauf, welcher unbehandelt, ungenügend oder zu spät behandelt, schwerwiegende Folgen haben kann (Cobb et al. 1953). Die rheumatoide Arthritis führt über Funktionseinschränkungen der Gelenke zu Behinderung und Invalidität, die nach einer Krankheitsdauer von 10 Jahren in bis zu 50 % der Fälle in Erwerbsunfähigkeit münden (Sokka et al. 1999). Damit ist die RA nicht nur aufgrund der Therapiekosten, sondern auch aufgrund der indirekten Kosten eine teure Erkrankung für das Gesundheitssystem (Cooper 2000; Pugner et al. 2000).

Eine schnelle Überweisung vom Allgemeinmediziner an den Rheumatologen (Criswell et al. 1997), eine darauffolgende rasche Diagnosestellung sowie ein unverzüglicher Therapiebeginn mit DMARDs im therapeutischen Fenster, den ersten 3-6 Monaten nach Beschwerdebeginn, sind essentiell für ein erfolgreiches Management der RA (O'Dell 2002; Boers 2003).

Eine frühzeitige Therapie eröffnet folgende Möglichkeiten:

- Für das Erreichen des Therapieziels, d.h. einer Remission der RA, besteht eine dreifach höhere Chance als bei gleicher Therapie in späteren Erkrankungsphasen (Mottonen et al. 2002; Nell et al. 2004).
- Die Langzeitprognose der Erkrankung wird entscheidend verbessert (Lard et al. 2001; Wiles et al. 2001; Mottonen et al. 2002).
- Das Risiko des wesentlichen Funktionsverlusts durch progrediente Gelenkzerstörung, den etwa 2/3 der Patienten erleiden, kann um die Hälfte reduziert werden (Wiles et al. 2001).
- DMARDs hemmen die radiologisch fassbare Progression der Gelenkzerstörung (Jones et al. 2003).

In einer Untersuchung zur zeitlichen Verzögerung des Therapiebeginns mit 98 Patienten unterscheiden Chan *et al.* zwei Komponenten des Verzögerungszeitraumes: zum einen den Zeitverlust von Symptombeginn bis zum ersten (Allgemein-) Arztbesuch, dieser betrug durchschnittlich 4 Wochen; zum anderen der Zeitraum vom ersten Arztkontakt bis zur Diagnose: Hier vergingen ca. 18 Wochen (Chan et al. 1994). Eine andere Studie mit 527 Patienten ergab eine mittlere

Verzögerung zwischen Symptombeginn und DMARD-Therapiebeginn von 19 Monaten, hier vergingen 17 Monate zwischen Symptombeginn und Erstvorstellung beim Rheumatologen, während dann nur noch 2 Monate vergingen, bis auch eine DMARD-Therapie begonnen wurde (Hernandez-Garcia et al. 2000).

Diese Zahlen zeigen die Notwendigkeit einer Verkürzung des Zeitraums auf, der bis zur Erstvorstellung beim Rheumatologen vergeht. Möglicherweise kann durch den Einsatz eines Schnelltests für die RA eine Verkürzung dieser zeitlichen Verzögerung zwischen Symptom- und DMARD-Therapiebeginn erzielt werden.

In dieser Studie wurde erstmals ein Anti-MCV-Ak und RF IgG Schnelltest (Anti-MCV-Ak als ein neuer hochspezifischer Marker für die RA) zur Diagnostik der RA an 230 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen und 200 gesunden Blutspendern durchgeführt und die Ergebnisse ausgewertet und mit denen des ELISA verglichen.

#### 5.1 Durchführbarkeit und Praxistauglichkeit des POCT

Bei dem im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Lateral-flow Immunochromatographic Assay handelt es sich um einen einfachen Schnelltest, der leicht durchzuführen ist: Es werden 1-2 Tropfen Blut aus der Fingerbeere des Probanden benötigt, diese werden auf das Probenfeld aufgetragen. Anschließend werden wenige Tropfen Pufferlösung auf das Pufferfeld aufgetragen. Ein integriertes Kontrollsystem zeigt die korrekte Testdurchführung an und das Ergebnis kann in Form von keiner, einer oder zwei roten Ergebnislinien nach 10-15 Minuten vom Untersucher abgelesen werden. Der Schnelltest ist ein einfach anzuwendender und daher sehr praxistauglicher Test.

Die Durchführung des Schnelltests gelang ausnahmslos bei allen 430 Probanden. In allen Fällen zeigte das integrierte Kontrollsystem eine positive Kontrolllinie zur Bestätigung der korrekten Testdurchführung an.

#### 5.2 Anti-MCV-Antikörper

Der POCT fand bei einem Cut-off-Wert von 40 U/ml insgesamt 62 (14,4 %) positive von 430 Proben des untersuchten Gesamtkollektivs, davon stammten 59 Proben aus der RA-Gruppe und drei aus der Blutspendergruppe. Unter den 59 positiven Proben befanden sich 13, die nur für Anti-MCV-AK, nicht jedoch für RF IgG positiv waren. Die verbleibenden 368 Proben waren negativ. In Bezug auf die Diagnose RA ergibt dies eine Sensitivität von 54,6 % und eine Spezifität von 99,1 %. Einschlusskriterium für die RA-Gruppe war ein bisher von RF- und/oder ACPA-Positivität

gekennzeichneter Krankheitsverlauf. Ein Teil der Patienten stand zum Testzeitpunkt unter DMARD-Therapie, für die eine Verminderung der Produktion und damit Nachweisbarkeit von Autoantikörpern beschrieben worden ist; das Absinken der Autoantikörpertiter eignet sich möglicherweise sogar zum Therapiemonitoring (Nicaise Roland et al. 2008). Der Therapieeinfluss erklärt möglicherweise die geringe Anzahl richtigpositiver Proben. Andererseits lag die Sensitivität des ELISA bei 75%, das ist mit den in den bisher durchgeführten Studien vorgeschriebenen Sensitivitäten gut in Einklang zu bringen (Dejaco et al. 2006; Bang et al. 2007; Bizzaro et al. 2007; Coenen et al. 2007; Soos et al. 2007; Innala et al. 2008; Poulsom et al. 2008; Ursum et al. 2008). Die Spezifität von 99,1 % des POCT in Bezug auf die Diagnose ist exzellent: In der Kontrollgruppe von Patienten mit anderen rheumatologischen Erkrankungen fand sich kein positives Ergebnis für Anti-MCV, lediglich in der Gruppe der Blutspender fanden sich drei Anti-MCV-Ak positive Probanden, die im ELISA ebenfalls positiv waren. Demzufolge ergibt sich gegenüber den Kontrollen mit rheumatologischen Erkrankungen eine Spezifität von 100 %, während die Spezifität gegen gesunde Probanden 98,5 % beträgt.

Eine Anti-MCV-Ak-Positivität bei gesunden Probanden wurde im Rahmen vorangegangener Studien bereits beschrieben: So fanden Bang *et al.* unter 232 gesunden Probanden vier Anti-MCV positive Proben (Bang et al. 2007), Mathsson *et al.* beschrieben unter 100 gesunden Kontrollen zwei sicher positive und drei Proben, deren Titer grenzwertig zwischen 20 und 30 U/ml lagen (Mathsson et al. 2008). Poulsom *et al.* fanden einen grenzwertigen Befund von 20 U/ml bei einem gesunden Kontrollprobanden (Poulsom et al. 2008). Zudem beschrieben Soos *et al.* positive Proben unter 44 gesunden Kontrollen, ohne jedoch deren genaue Zahl anzugeben (Soos et al. 2007).

Die drei positiven Blutspender wiesen folgende Charakteristika auf: Die Konzentrationen der Anti-MCV-Ak im ELISA lagen bei 100, 124 und 322 U/ml, zudem waren alle drei Probanden auch RF-IgG positiv, sowohl in POCT als auch in ELISA, so dass bei ihnen zumindest eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer rheumatologischen Erkrankung besteht.

Der positive prädiktive Wert des Anti-MCV-POCT lag bei 100 %, der negative prädiktive Wert bei 71,3 %. Die Berechnung dieser Werte ist abhängig von der Prävalenz der Erkrankung, in diesem Fall von der Prävalenz der Erkrankung innerhalb des untersuchten Kollektivs. Hierzu wurde der Anteil der an einer

seropositiven RA Erkrankten an der Gesamtzahl rheumatologisch Erkrankter bestimmt, dies ergab eine Prävalenz von 47 %.

Sensitivität und Spezifität des Anti-MCV-Ak POCT in Bezug auf das Standardverfahren ELISA lagen bei 69,3 % bzw. 99,7 %. Es fanden sich ein falschpositives und 27 falschnegative Ergebnisse im POCT, das ergibt einen Anteil falschpositiver Ergebnisse von 1,6 % und falschnegativer von 7,3 %.

Bei dem falschpositiven Ergebnis handelt es sich um eine 74-jährige RA-Patientin mit einer Anti-MCV-Konzentration im ELISA von 31,8 U/ml. Bei der Bestimmung des RF IgG war die Patientin sowohl im POCT als auch im ELISA mit > 400 U/ml positiv.

Von den 27 falschnegativen Anti-MCV-Ak POCT-Proben waren 23 aus der RA-Gruppe, diese wiesen im ELISA Resultate von 45,7 U/ml bis 867 U/ml auf, der Mittelwert lag bei 188,2 U/ml.

Um die falschnegativen Ergebnisse genauer zu charakterisieren, wurde eine Analyse nach Antikörperkonzentration, Patientengeschlecht, Patientenalter und, sofern vorhanden, nach Erkrankungsdauer durchgeführt. Dabei ergab sich bezüglich der Antikörperkonzentration eine sehr gute Übereinstimmung in den Bereichen < 40 und > 400 U/ml, während die meisten diskrepanten Ergebnisse zwischen diesen Konzentrationen lagen. Insgesamt ergaben sich bessere Sensitivitäten des POCT unter den Proben männlicher Patienten, 66,7 % versus 51,7 % unter den Proben der Patientinnen in Bezug auf die Diagnose RA und 87,5 % versus 67 % in Bezug auf den ELISA. Eine leicht höhere Sensitivität unter der Proben männlichen Patienten wurde ebenfalls von Wagner *et al.* gefunden, auch wenn diese nicht signifikant war (Wagner *et al.* 2009). Die Geschlechterverteilung seiner Studie war mit 19,2 % männlichen Patienten und 80,8 % Patientinnen nahezu gleich.

Die Spezifitätsunterschiede hingegen in Bezug auf die Diagnose RA waren mit 99,1 % unter den Proben der Probandinnen und 98,9 % unter den Proben männlicher Probanden sowie auf den ELISA bezogen mit 95 % unter den Proben der Probandinnen und 100 % unter den Proben männlicher Probanden eher gering. Altersbezogen zeigte sich keine Fehlerhäufung. Bezüglich der Erkrankungsdauer lässt sich hervorheben, dass sich gerade in der Gruppe mit Symptombeginn innerhalb des letzten Jahres eine hohe Übereinstimmung zwischen POCT- und ELISA-Ergebnissen fand; das steht im Einklang mit der bereits bekannten hohen Sensitivität der Anti-MCV-Antikörper in der frühen Erkrankungsphase (92 % bei Poulosom *et al.*, 71 % bei Coenen *et al.*)(Coenen *et al.* 2007; Poulosom *et al.* 2008).

Möglicherweise sind die weit verteilten falschnegativen Werte und der oben beschriebene Fall der RA-Patientin Ausdruck dessen, dass die fixierte Antigenregion bzw. das Epitop in POCT und ELISA nicht hundertprozentig übereinstimmen.

Die vier falschnegativen Ergebnisse in der Kontrollgruppe ließen sich folgenden Diagnosen und Antikörperkonzentrationen zuordnen: (1) Eine Patientin mit seronegativer RA und 40,3 U/ml: Hier handelt es sich um einen Wert im Grenzbereich für Anti-MCV-Ak, zudem ist eine Serokonversion im Krankheitsverlauf möglich. (2) Eine Patientin mit Sjögren-Syndrom und 381 U/ml: positive Anti-MCV-Antikörperwerte bei Patienten mit Sjögren-Syndrom wurden mehrfach vorbeschrieben (Bang et al. 2007; Nicaise Roland et al. 2008; Poulsom et al. 2008; Wagner et al. 2009). (3) Eine Patientin mit Polyarthrose und 232 U/ml sowie (4) eine Patientin mit Arthrose und 68 U/ml: Hier wäre die Diagnose zu überprüfen oder aber der Übergang in eine rheumatoide Arthritis in Betracht zu ziehen.

Insgesamt stimmten die qualitativen Ergebnisse des POCT und die quantitativen des ELISA auf alle Proben bezogen zu 93 % überein. Hierbei ergaben sich in der RA-Gruppe 78 %, in der Kontrollgruppe 97 % und in der Blutspendergruppe 100 %.

### 5.3 Rheumafaktor IgG

Der RF IgG-POCT fand bei einem Cut-off-Wert von 30 U/ml insgesamt 87 (20,2 %) positive Proben von 430. Davon stammten 61 aus der RA-Gruppe, 10 aus der Kontrollgruppe und 16 aus der Blutspendergruppe. Die übrigen 343 POCT-Assays waren negativ. Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Diagnose RA lagen bei 56,5 % bzw. 91,9 %. Die 16 positiven Blutspender waren durch einen Altersmittelwert von 68,3 Jahren gekennzeichnet, während der insgesamt Mittelwert in der Blutspendergruppe 47,4 Jahre betrug; dieser deutliche Unterschied lässt sich möglicherweise der erhöhten Prävalenz des RF im höheren Alter zuordnen.

Im Vergleich zum ELISA ergaben sich 8 (9,2 %) falschpositive und 63 (18,4 %) falschnegative Ergebnisse. Dies führt zu einer Sensitivität von 55,6 % und einer Spezifität von 97,2 %. Um die falschnegativen Ergebnisse genauer zu charakterisieren, wurde ebenfalls eine Analyse nach Antikörperkonzentration, Patientengeschlecht, Patientenalter und, sofern vorhanden, nach Erkrankungsdauer durchgeführt.

In der RA-Gruppe verteilten sich 32 falschnegative RF IgG-POCT-Ergebnisse auf Antikörperkonzentrationen von 31,2 U/ml bis 396,2 U/ml im ELISA, der Mittelwert

betrug 103,7 U/ml. Auffällig war, dass zwischen 30 und 100 U/ml nur 34 % der Ergebnisse in POCT und ELISA übereinstimmten. Die Sensitivität des Assays unter den Proben der Patientinnen in Bezug auf die Diagnose RA lag bei 56,3 %, unter den Proben männlicher Patienten bei 57,1 %. Die Spezifität war unter den Proben beider Geschlechter mit jeweils 91,9 % gleich. Die Übereinstimmung der POCT-Ergebnisse mit denen des ELISA war bei den Proben der Probandinnen mit 81,6 % jedoch besser als bei den männlichen Probanden (66,7 %). Hinsichtlich Patientenalter und Erkrankungsdauer ließen sich keine Schlussfolgerungen anstellen.

In der Kontrollgruppe gab es im Vergleich zum ELISA vier falschpositive und 29 falschnegative POCT-Ergebnisse. Die vier falschpositiven Ergebnisse traten bei Patienten mit folgenden Diagnosen auf: (1) CREST-Syndrom ELISA: 19,8 U/ml, (2) Ankylosierende Spondylitis ELISA: 24,8 U/ml, (3) Psoriasis-Arthritis ELISA: 11,9 U/ml und (4) bisher seronegative RA ELISA: 23,7 U/ml.

Unter den 29 falschnegativen Ergebnissen fanden sich Patienten mit folgenden Diagnosen: ankylosierende Spondylitis (n=6), seronegative RA (n=6), Psoriasisarthritis (n=4), Arthrosen/Polyarthrosen (n=2), Oligoarthritis (n=2), Polymyalgia rheumatica (n=2), Sjögren-Syndrom (n=2) sowie Patienten mit Borreliose (n=1), Uveitis (n=1), juveniler RA (n=1), SLE/Sjögren-Overlap (n=1) und Arthritis bei Zöliakie (n=1).

Die Übereinstimmung der qualitativen RF IgG-Ergebnisse mit den quantitativen des ELISA betrug auf alle Proben bezogen 83 %: 67,7 % in der RA-Gruppe, 73 % in der Kontrollgruppe und 98,5 % in der Blutspendergruppe.

#### 5.4 Anforderungen an einen diagnostischen Test

Diagnostische Tests sollten folgende Anforderungen erfüllen (Guckenmoos-Holzmann et al. 1995): (1) Validität: Ausmaß der Übereinstimmung der Testergebnisse mit dem tatsächlichen Sachverhalt. Der in der vorliegenden Arbeit evaluierte Test erreichte 93% Übereinstimmung für Anti-MCV-Antikörper und 83% Übereinstimmung für Rheumafaktor IgG mit dem Standardverfahren ELISA. (2) Reliabilität: Ausmaß an Übereinstimmung bei wiederholter Durchführung des Tests. Da es sich in der vorliegenden Studie um eine Querschnittsstudie handelt, konnte dieses Kriterium nicht erfasst werden. Es ist wünschenswert, die wiederholte Durchführung in einer weiteren Studie zu testen. (3) Relevanz: Einfluss des Testergebnis auf weitere diagnostische Mittel oder die Therapiewahl. Liegt ein

positives Ergebnis und damit ein Verdacht auf eine RA vor, so muss der Patient dringend an den Rheumatologen überwiesen werden, damit dieser die Diagnose stellen und mit der krankheitsmodifizierenden Therapie beginnen kann. Der positive Nachweis von Anti-MCV-Ak ist mit einem schwereren Verlauf der Erkrankung vergesellschaftet: Innala *et al.* zeigten, dass Patienten mit Anti-MCV-Antikörpern nach 24 Monaten Therapie eine signifikant geringere Abnahme der Krankheitsaktivität, gemessen am DAS 28, hatten (Innala *et al.* 2008). Mathsson *et al.* stellten fest, dass Anti-MCV-Positivität auf stärkere Gelenkdestruktionen vor allem in den ersten beiden Erkrankungsjahren hinweisen kann (Mathsson *et al.* 2008). Zudem konnte von Criswell *et al.* gezeigt werden, dass Patienten von einer Behandlung durch Rheumatologen profitieren (Criswell *et al.* 1997). Insofern kann der Einsatz des vorliegenden Tests zu relevanten Konsequenzen in Bezug auf Überweisung zum Spezialisten und frühzeitige Therapie führen. (4) Effizienz: Kosten-Nutzen-Effekt, den das Verfahren im Gesamtprozess der Krankenversorgung zeigt. Dieser wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht untersucht, jedoch ist mit einem positiven Effekt zu rechnen, da frühe Diagnosestellung und rascher Therapiebeginn mit höherer Wahrscheinlichkeit in die Remission führen und die Langzeitprognose der Erkrankung bessern (Lard *et al.* 2001).

### 5.5 Screeningtest oder Bestätigungstest?

Die Validitätsmaße Sensitivität und Spezifität erreichen nicht gleichzeitig 100%, sondern die Zunahme des einen Maßes zieht die Abnahme des anderen nach sich, sie verhalten sich gegenläufig. In der jeweiligen Testsituation muss demzufolge entschieden werden, welches Maß optimiert werden soll. Beide Validitätsmaße werden entscheidend vom Cut-off-Wert bestimmt. Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten: (1) Die Entwicklung eines Screening-Tests. Dieser erfordert eine hohe Sensitivität, da kein Kranker übersehen werden soll, und somit möglichst wenig falschnegative Ergebnisse auftreten. (2) Die Entwicklung eines Bestätigungstests. Der Test und/oder die auf ihn folgende Therapie ist mit Risiken für den Patienten verbunden, im Falle der RA beispielsweise erfolgt eine Therapie mit immunsuppressiven Medikamenten, die potentiell schwere Nebenwirkungen mit sich bringen können. Ziel ist eine hohe Spezifität und damit eine möglichst geringe Anzahl an falschpositiven Testergebnissen, damit ein möglicherweise gesunder Patient nicht unnötig belastet wird. Dem spezifischen Test sollten vorbereitende Verfahren, wie



beispielsweise eine gute ärztliche Anamnese und Untersuchung, vorausgegangen sein, damit das Patientengut vorselektiert ist. Ein POCT-Assay als Bestätigungstest sollte immer durch einen Standardtest bestätigt werden: Im Fall des POCT zur Bestimmung von Anti-MCV-Ak und RF IgG ist dies der ELISA.

Der in der vorliegenden Arbeit erstmals untersuchte POCT-Assay wurde als Bestätigungstest für die rheumatoide Arthritis entwickelt. Da sich in den Patientengruppen unter den vorliegenden Ergebnissen für die Bestimmung von Antikörpern gegen MCV nur ein falschpositives Ergebnis befindet und er eine Spezifität von 99,1% aufweist, erfüllt er die geforderten Bedingungen.

## 5.6 Vergleich mit anderen Arbeiten zum Thema

Bis heute zählen die Rheumatologie und insbesondere autoimmune Erkrankungen nicht zu den klassischen Einsatzgebieten von patientennahen Schnelltests. Das vorrangige Anwendungsgebiet ist die Intensiv- und Notfallmedizin, und der am häufigsten bestimmte Parameter ist Glucose im Serum. Der Nachweis von Rheumafaktoren zur Diagnose der rheumatoiden Arthritis – der RF stellt eines der Klassifikationskriterien der RA dar - erfolgt mittels Latexagglutinationsverfahren (Plotz et al. 1956), Nephelometrie und Turbidimetrie sowie inzwischen als Standardmethode mittels ELISA (Greiling et al. 1994). Heute wird die alleinige Bestimmung der Rheumafaktoren zur Diagnose der RA als obsolet betrachtet; empfohlen wird der Nachweis von ACPA (Egerer et al. 2009).

Bezüglich des Einsatzes von Schnelltests zeichnet sich jedoch eine neue Entwicklung ab. In 2008 wurde von Snijders *et al.* ein Schnelltest zur Bestimmung von Anti-CCP2-Antikörpern vorgestellt (Snijders et al. 2008). Dieser wurde im Rahmen einer Studie mit 109 RA-Patienten, 351 Patienten mit anderen rheumatologischen Erkrankungen und 420 gesunden Kontrollen untersucht. Unter anderem wurde auch der Vergleich der Bestimmung aus dem Kapillarvollblut und der Bestimmung der Antikörper mittels ELISA untersucht. Die Sensitivität in Bezug auf den ELISA gaben die Autoren mit 95 %, die Spezifität ebenfalls mit 95 % an. Die Sensitivität in Bezug auf die Diagnose wurde nicht explizit erwähnt, jedoch fanden sich 61 positive von insgesamt 109 Patienten, so dass die Sensitivität bei 56 % liegt. In der vorliegenden Arbeit wurde nun erstmals ein Schnelltest untersucht, der dem Nachweis von Anti-MCV-Ak und RF IgG dient. Da eine vergleichbare Studie bisher nicht durchgeführt worden ist wurden die Ergebnisse eingangs mit den bisher zur

Bestimmung von Anti-MCV-Ak gelaufenen Studien verglichen, auch wenn es sich dabei um Bestimmungen mittels ELISA handelte. Weitere Studien sind zur Einordnung von Schnelltests in der Rheumatologie vonnöten. Jedoch scheint der in dieser Arbeit untersuchte Schnelltest zur Bestimmung von Anti-MCV-Ak und RF IgG die bisher vorhandenen diagnostischen Möglichkeiten sinnvoll ergänzen zu können, und, betrachtet man den zeitlichen Aspekt, um ein wertvolles Werkzeug erweitern zu können.

### 5.7 Limitierung der Studie

Das Patientenkollektiv entstammt der einer Medizinischen Universitätsklinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und einer spezialisierten Rheumaklinik und ist demzufolge vorselektiert. Daher ergibt sich auch eine sehr hohe Prävalenz von 47 % der seropositiven RA, die derjenigen in einer normalen Arztpraxis nicht entspricht. Das ist für die Bewertung des positiven prädiktiven Wertes der Anti-MCV-AK-Positivität von 100 % zu berücksichtigen. Für verschiedene Therapien wurden Einflüsse auf die Produktion von Autoantikörpern gezeigt (Nicaise Roland et al. 2008), das könnte zum einen deren Nachweisbarkeit beeinflussen und erklärt andererseits möglicherweise den relativ niedrigen Anteil von 54% seropositiven Ergebnissen in der RA-Gruppe. Ebenfalls zu bedenken sind Limitationen des RF IgG hinsichtlich seiner Detektierbarkeit und Aussagekraft: Der Nachweis des RF IgG wird durch die Neigung zur Selbstaggregation erschwert und die Aussagekraft wird durch die eingeschränkte Spezifität des Rheumafaktors im Allgemeinen vermindert. Auf die Berechnung positiver und negativer prädiktiver Werte der RF-Ergebnisse wurde aus diesen Gründen verzichtet. Auch konnten für den RF IgG bisher keine prognostische Relevanz wie beispielsweise für IgM und IgA nachgewiesen werden. Daher wird Rheumafaktor IgG normalerweise nicht routinemäßig bestimmt. Erfolgt die Auswertung des Schnelltests nach mehr als 15 Minuten, kann es zur unspezifischen Antikörperbindung kommen, die ein fälschlicherweise positives Ergebnis hervorrufen kann. Dies ist vom durchführenden Personal zu beachten. Zudem muss in weiteren Studien gezeigt werden, dass der Einsatz des POCT tatsächlich die zeitliche Verzögerung reduzieren und zu schnellerem Therapiebeginn führen kann. Bei einer aktuellen Weiterentwicklung dieses POCT-Assays wurde der RF IgG durch den RF IgM ersetzt.

## 5.8 Stärken der Studie

Die Durchführung aller Tests und die Auswertung der 230 Ergebnisse des Patientenkollektivs erfolgten durch einen Untersucher, somit herrschten konstante und reproduzierbare Bedingungen. Die vielversprechenden Eigenschaften von MCV, insbesondere die vergleichsweise hohe Sensitivität in der Frühphase der Erkrankung und seine potentielle Rolle in der Pathogenese der RA stellen eine Stärke des POCT dar (Coenen et al. 2007; Poulsom et al. 2008). Antikörper gegen MCV sind als Marker für die rheumatoide Arthritis mit einer Sensitivität von 82 % und einer Spezifität von 98 % beschrieben worden (Bang et al. 2007). Die Kosten des POCT gegenüber dem ELISA sowie das zeitnahe Erfahren des Ergebnisses stellen eine weitere Stärke des Verfahrens dar.

## 5.9 Schlussfolgerungen für die Praxis

Zur optimalen Nutzung eines Testverfahrens sind entsprechende Rahmenbedingungen für die Anwendung des Tests nötig. Bezüglich des vorliegenden Tests stehen mehrere Optionen zur Wahl: Der Test könnte in der Apotheke frei erhältlich sein und anschließend vom Patienten zuhause durchgeführt werden. Würde der Test in der Arztpraxis oder Ambulanz durchgeführt, stellt sich die Frage, ob dies beim erstbehandelnden Arzt oder bei Rheumatologen geschehen soll. Auch die Frage nach dem Anlass zur Testdurchführung muss beantwortet werden: Ist eine Durchführung zu jedem Zeitpunkt geeignet, beispielsweise wenn „Rheuma“ in der Familie vorkommt und die Patienten ihr eigenes Risiko kennen wollen, oder erst nach Symptombeginn?

Bezüglich der Vorselektion des Patientenguts empfiehlt sich die Durchführung des untersuchten POCT nur in der ärztlichen Praxis bei vorliegendem ärztlichen Verdacht aufgrund einer klinischen Diagnose; ein freier Verkauf des POCT in der Apotheke – und damit dessen Verwendung als Screeningtest - kann in Einklang mit den in Kapitel 5.4 diskutierten Argumenten nicht empfohlen werden.

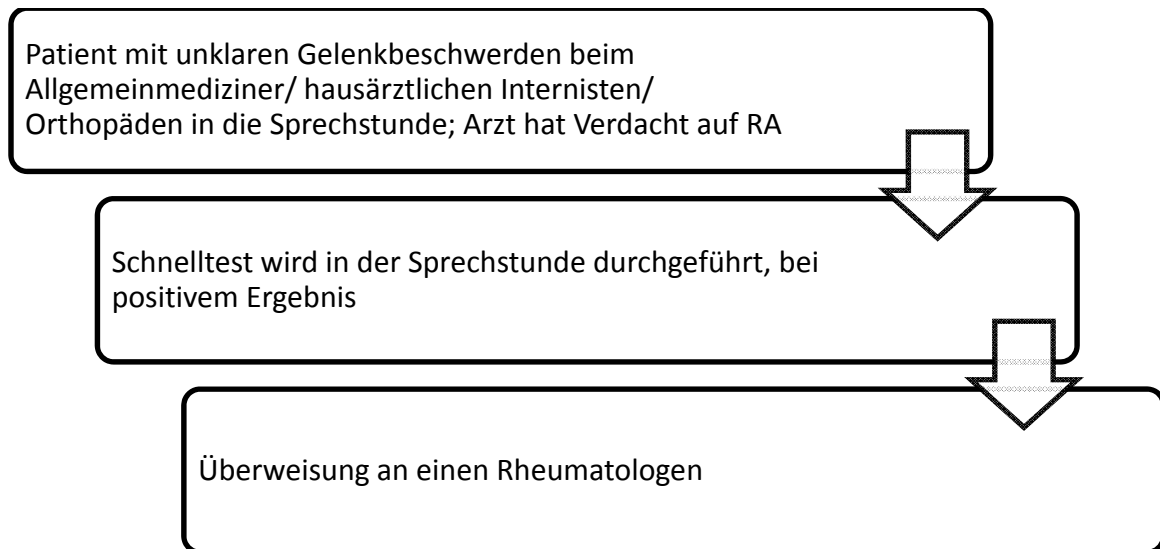


Abbildung 18. Empfohlenes Vorgehen mit dem Schnelltest

Der Test wird beim erstversorgenden Arzt bei Symptombeginn von eingewiesenem Personal unter konstanten Bedingungen durchgeführt. Somit kann im Anschluss an das Ergebnis unverzüglich gehandelt werden. Ein weiterer Vorteil dieses Vorgehens ist, dass der Patient bei einem positiven Ergebnis durch den Arzt aufgefangen werden kann und sich nicht allein zuhause mit der Diagnose RA konfrontiert sieht, zumal die Möglichkeit besteht, dass der Test schon vor Beschwerdebeginn ein positives Ergebnis zeigt, da MCV bereits Jahre vor Erkrankungsbeginn nachweisbar sein kann. Auch die theoretische und ethisch schwierige Entscheidung der Einleitung einer aggressiven Therapie ohne Vorliegen von Symptomen bei hoher Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer RA im weiteren Verlauf kann so umgangen werden. In Anbetracht des hohen positiven prädiktiven Wertes sollte auf einen positiven Test grundsätzlich eine Überweisung an den Rheumatologen erfolgen. Der Nachweis von Anti-MCV-Antikörpern allein stellt noch keine Diagnose und es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit RA von einer Behandlung durch den Spezialisten profitieren (Criswell et al. 1997).

Im Falle eines negativen Testergebnisses sollten regelmäßige Verlaufskontrollen der klinischen Beschwerden des Patienten erfolgen.

Heute und in Zukunft sind Labormarker, die zu einer schnellen und sicheren Diagnosestellung der RA führen, hilfreich und vonnöten. Einfache, gut zugängliche, leicht durchführbare und günstige Testverfahren wie der in dieser Studie erstmals klinisch evaluierte POCT zur Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern und Rheumafaktoren sind gefragt. Ob er tatsächlich zu einem häufigeren Therapiebeginn

im therapeutischen Fenster der RA und damit zu einem verbesserten Outcome der Patienten mit rheumatoider Arthritis führen kann, muss in zukünftigen breiteren Studien mit größerer Fallzahl analysiert werden. Diese erste Untersuchung zeigt die Möglichkeiten des POCT, ein wertvolles Werkzeug für ein besseres Management der RA zu werden, auf.

## 6 Zusammenfassung

Die rheumatoide Arthritis ist eine ca. 1% der Bevölkerung betreffende entzündliche Gelenkerkrankung, welche vorwiegend chronisch-progredient verläuft. Das führt nicht selten zu Invalidität und Arbeitsunfähigkeit. Wie bei vielen Autoimmunerkrankungen sind Frauen häufiger betroffen als Männer. Die Diagnosestellung der rheumatoiden Arthritis beruht vorwiegend auf der ärztlichen Anamnese und körperlichen Untersuchung, zudem erfolgt neben weiteren unspezifischen Laborbefunden die Bestimmung von Rheumafaktoren und Antikörpern gegen citrullinierte Peptide. Die Diagnosestellung ist aufgrund der im frühen Stadium noch recht unspezifischen Symptome schwierig und teils langwierig. Eine frühzeitige Diagnosestellung und ein unverzüglicher Therapiebeginn in den ersten drei Monaten nach Symptombeginn sind jedoch Voraussetzungen für ein erfolgreiches Management der RA und konsekutiv für das Vermeiden oder Eindämmen von Komplikationen, die der natürliche Verlauf der Erkrankung mit sich bringt.

Mit Antikörpern gegen MCV, mutiertes citrulliniertes Vimentin, wurde kürzlich ein neuer Marker für die RA beschrieben. Er weist eine Sensitivität von 82 % und eine Spezifität von 98 % auf, zudem konnte citrulliniertes Vimentin direkt aus der Synovialflüssigkeit der RA-Patienten gewonnen werden. Seine hohe Spezifität für die RA und seine möglichen pathogenetischen Implikationen machen MCV zu einem relevanten Antigen für die RA.

Erstmals wurde nun ein einfacher, praxistauglicher POCT – ein patientennaher Schnelltest – zur Bestimmung von Antikörpern gegen MCV und Rheumafaktor der Klasse IgG entwickelt. Zur Durchführung wurden ein bis zwei Tropfen Kapillarblut auf den Teststreifen aufgetragen, Pufferlösung wurde zugegeben und nach bereits 10-15 Minuten konnte das Ergebnis in Form von farbigen Streifen abgelesen werden. Der Schnelltest wies zudem ein integriertes Kontrollsystem auf, welches eine korrekte Testdurchführung anzeigte, dies war bei allen durchgeführten Schnelltests der Fall.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war es, diesen neu entwickelten Streifentest in der Klinik erstmals zu evaluieren und seine Ergebnisse mit dem ELISA-Verfahren zur Bestimmung der entsprechenden Antikörper zu vergleichen. Hierzu wurden 230 Patienten der Medizinischen Klinik m. S. Rheumatologie und Klinische Immunologie der Charité und der Rheumaklinik Buch sowie 200 gesunde Blutspender untersucht. Unter den 230 Patienten befanden sich 108 Patienten mit bisher

seropositivem/ACPA-positivem Verlauf der RA und 122 Patienten in der Kontrollgruppe mit anderen rheumatologischen Erkrankungen. Den größten Anteil an Diagnosen in der Kontrollgruppe stellten Spondylitis ankylosans, rheumatoide Arthritis mit bisher seronegativem Verlauf sowie Psoriasisarthritis.

Die Sensitivität des Tests für die Bestimmung von Anti-MCV-Antikörpern lag bei 54,6 % in Bezug auf die Diagnose RA und die Spezifität bei 99,1 %. Der positive prädiktive Wert in Bezug auf die Diagnose seropositive RA betrug 100 %, der negative prädiktive Wert betrug 71,3 %. In Bezug auf das Standardverfahren ELISA ergab sich eine Sensitivität von 69,3 % und eine Spezifität von 99,7 %. Zudem trat lediglich ein falschpositives Ergebnis auf, insofern erfüllt der Test die Anforderungen an einen Bestätigungstest. Die Gesamtübereinstimmung der Ergebnisse von POCT und ELISA bezüglich MCV lag bei 93 %. Die Ergebnisse hinsichtlich des RF IgG stellten sich wie folgt dar: Die Sensitivität des RF IgG POCT beträgt 55,6 %, seine Spezifität 97,2 %. Die Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Verfahren lag bei 83 %.

Für den sinnvollen praktischen Einsatz des POCT empfiehlt sich folgendes Vorgehen: Der POCT sollte in der Praxis des erstversorgenden Arztes durchgeführt werden, sobald der Patient über unklare Gelenkbeschwerden klagt und der Arzt den Verdacht auf eine rheumatoide Arthritis hat. Im Anschluss an ein positives Testergebnis sollte im Sinne der Zeitersparnis eine sofortige Überweisung an den Rheumatologen erfolgen, damit dieser die Diagnose stellen und als Konsequenz die krankheitsmodifizierende Therapie rechtzeitig einleiten kann.

In diesem Rahmen kann der Schnelltest in Zukunft ein wertvolles und durch seine schnelle Ergebnislieferung ein den bisher vorliegenden Möglichkeiten überlegenes Werkzeug zur Diagnosesicherung darstellen und so möglicherweise zu einem verbesserten und erfolgreicherem Management der rheumatoiden Arthritis beitragen.

## Literaturverzeichnis

- Arnett, F. C. (1989). "Revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis." Bull Rheum Dis **38**(5): 1-6.
- Asaga, H., Yamada, M. and Senshu, T. (1998). "Selective deimination of vimentin in calcium ionophore-induced apoptosis of mouse peritoneal macrophages." Biochem Biophys Res Commun **243**(3): 641-6.
- Bang, H., Egerer, K., Gauliard, A., Luthke, K., Rudolph, P. E., Fredenhagen, G., Berg, W., Feist, E. and Burmester, G. R. (2007). "Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **56**(8): 2503-11.
- Bizzaro, N., Tonutti, E., Tozzoli, R. and Villalta, D. (2007). "Analytical and diagnostic characteristics of 11 2nd- and 3rd-generation immunoenzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins." Clin Chem **53**(8): 1527-33.
- Boers, M. (2003). "Understanding the window of opportunity concept in early rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **48**(7): 1771-4.
- Borg, G., Allander, E., Berg, E., Brodin, U., From, A. and Trang, L. (1991). "Auranofin treatment in early rheumatoid arthritis may postpone early retirement. Results from a 2-year double blind trial." J Rheumatol **18**(7): 1015-20.
- Buettner, J. (1989). Die Validität klinisch-chemischer Befunde, in: H. Greiling, A.M. Gressner: Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie, Schattauer Verlag, 2. Aufl., Stuttgart, S 71-78.
- Chan, K. W., Felson, D. T., Yood, R. A. and Walker, A. M. (1994). "The lag time between onset of symptoms and diagnosis of rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **37**(6): 814-20.
- Charles, P. G. and Grayson, M. L. (2007). "Point-of-care tests for lower respiratory tract infections." Med J Aust **187**(1): 36-9.
- Chen, H. Y., Lu, Y., Howard, T., Anderson, D., Fong, P. Y., Hu, W. P., Chia, C. P. and Guan, M. (2005). "Comparison of a new immunochromatographic test to enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of immunoglobulin m antibodies to hepatitis e virus in human sera." Clin Diagn Lab Immunol **12**(5): 593-8.
- Choy, E. H. and Panayi, G. S. (2001). "Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis." N Engl J Med **344**(12): 907-16.
- Cobb, S., Anderson, F. and Bauer, W. (1953). "Length of life and cause of death in rheumatoid arthritis." N Engl J Med **249**(14): 553-6.
- Coenen, D., Verschueren, P., Westhovens, R. and Bossuyt, X. (2007). "Technical and diagnostic performance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis." Clin Chem **53**(3): 498-504.
- Cooper, N. J. (2000). "Economic burden of rheumatoid arthritis: a systematic review." Rheumatology (Oxford) **39**(1): 28-33.
- Criswell, L. A., Such, C. L. and Yelin, E. H. (1997). "Differences in the use of second-line agents and prednisone for treatment of rheumatoid arthritis by rheumatologists and non-rheumatologists." J Rheumatol **24**(12): 2283-90.
- Dejaco, C., Klotz, W., Larcher, H., Duftner, C., Schirmer, M. and Herold, M. (2006). "Diagnostic value of antibodies against a modified citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis." Arthritis Res Ther **8**(4): R119.
- Dempfle, C., Schraml, M., Besenthal, I., Hansen, R., Gehrke, J., Korte, W., Risch, M., Quehenberger, P., Handler, S., Minar, E., Schulz, I. and Zerback, R. (2001).



- "Multicentre evaluation of a new point-of-care test for the quantitative determination of D-dimer." Clin Chim Acta **307**(1-2): 211-8.
- Despres, N., Boire, G., Lopez-Longo, F. J. and Menard, H. A. (1994). "The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis." J Rheumatol **21**(6): 1027-33.
- DGRh (2007) Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie (Hrsg.), Kommission für Qualitätssicherung: Qualitätssicherung in der Rheumatologie, 2. Auflage, Steinkopff Verlag, Berlin, 2007, S. 59-63
- Dorner, T., Egerer, K., Feist, E. and Burmester, G. R. (2004). "Rheumatoid factor revisited." Curr Opin Rheumatol **16**(3): 246-53.
- Eberhardt, K., Larsson, B. M., Nived, K. and Lindqvist, E. (2007). "Work disability in rheumatoid arthritis--development over 15 years and evaluation of predictive factors over time." J Rheumatol **34**(3): 481-7.
- Egerer, K., Feist, E., Burmester, G. (2009). "Serologische Diagnostik der rheumatoiden Arthritis." Dtsch Ärzteblatt **106** (10), S. 159-163.
- Ekelund, U. and Forberg, J. L. (2007). "New methods for improved evaluation of patients with suspected acute coronary syndrome in the emergency department." Emerg Med J **24**(12): 811-4.
- Fearon, W. R. (1939). "The carbamido diacetyl reaction: a test for citrulline." Biochem J **33**(6): 902-7.
- Feist, E., Egerer, K. and Burmester, G. R. (2007). "[Autoantibody profile in rheumatoid arthritis]." Z Rheumatol **66**(3): 212-4, 216-8.
- Fermann, G. J. and Suyama, J. (2002). "Point of care testing in the emergency department." J Emerg Med **22**(4): 393-404.
- Firestein, G. S. (2003). "Evolving concepts of rheumatoid arthritis." Nature **423**(6937): 356-61.
- Firestein, G. S. (2005). Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis in Harris, E.D. jr.; Budd, R.C.; Firestein, G.S. et al (Hrsg.): Harris: Kelley's Textbook of Rheumatology, 7th edition, Volume 2, WB Saunders, Philadelphia, Online Edition.
- Gregersen, P. K., Silver, J. and Winchester, R. J. (1987). "The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **30**(11): 1205-13.
- Greiling, H. u. Gressner, A. M. (1994). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart-New York, S.128-9.
- Guckenmoos-Holzmann, I., Wernicke, K.D. (1995). Medizinische Statistik, Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin-Wien.
- Harris, E. D., Jr. (1990). "Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy." N Engl J Med **322**(18): 1277-89.
- Harris, E. D., Jr. (2005). Clinical features of Rheumatoid Arthritis. Philadelphia, Harris, E.D., Jr., Budd R.C., Firestein G.S. et al (Hrsg.) in: Kelley's Textbook of Rheumatology, 7th edition, Vol.2, WB Saunders, Philadelphia, chapter 66, online edition
- Hayem, G., Chazerain, P., Combe, B., Elias, A., Haim, T., Nicaise, P., Benali, K., Eliaou, J. F., Kahn, M. F., Sany, J. and Meyer, O. (1999). "Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic marker in adult rheumatoid arthritis." J Rheumatol **26**(1): 7-13.
- Hernandez-Garcia, C., Vargas, E., Abasolo, L., Lajas, C., Bellajdell, B., Morado, I. C., Macarron, P., Pato, E., Fernandez-Gutierrez, B., Banares, A. and Jover, J. A. (2000). "Lag time between onset of symptoms and access to rheumatology

- care and DMARD therapy in a cohort of patients with rheumatoid arthritis." J Rheumatol **27**(10): 2323-8.
- Innala, L., Kokkonen, H., Eriksson, C., Jidell, E., Berglin, E. and Dahlqvst, S. R. (2008). "Antibodies Against Mutated Citrullinated Vimentin Are a Better Predictor of Disease Activity at 24 Months in Early Rheumatoid Arthritis Than Antibodies Against Cyclic Citrullinated Peptides." J Rheumatol.
- Jantti, J., Aho, K., Kaarela, K. and Kautiainen, H. (1999). "Work disability in an inception cohort of patients with seropositive rheumatoid arthritis: a 20 year study." Rheumatology (Oxford) **38**(11): 1138-41.
- Jones, G., Halbert, J., Crotty, M., Shanahan, E. M., Batterham, M. and Ahern, M. (2003). "The effect of treatment on radiological progression in rheumatoid arthritis: a systematic review of randomized placebo-controlled trials." Rheumatology (Oxford) **42**(1): 6-13.
- Kato, S., Ozawa, K., Okuda, M., Nakayama, Y., Yoshimura, N., Konno, M., Minoura, T. and Inuma, K. (2004). "Multicenter comparison of rapid lateral flow stool antigen immunoassay and stool antigen enzyme immunoassay for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children." Helicobacter **9**(6): 669-73.
- Lard, L. R., Visser, H., Speyer, I., vander Horst-Bruinsma, I. E., Zwinderman, A. H., Breedveld, F. C. and Hazes, J. M. (2001). "Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies." Am J Med **111**(6): 446-51.
- Lee, D. M. and Weinblatt, M. E. (2001). "Rheumatoid arthritis." Lancet **358**(9285): 903-11.
- Lindqvist, E., Eberhardt, K., Bendtzen, K., Heinegard, D. and Saxne, T. (2005). "Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **64**(2): 196-201.
- Marinova-Mutafchieva, L., Taylor, P., Funa, K., Maini, R. N. and Zvaifler, N. J. (2000). "Mesenchymal cells expressing bone morphogenetic protein receptors are present in the rheumatoid arthritis joint." Arthritis Rheum **43**(9): 2046-55.
- Mathsson, L., Mullazehi, M., Wick, M. C., Sjoberg, O., van Vollenhoven, R., Klareskog, L. and Ronnelid, J. (2008). "Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides." Arthritis Rheum **58**(1): 36-45.
- Menard, H. A., Lapointe, E., Rochdi, M. D. and Zhou, Z. J. (2000). "Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system." Arthritis Res **2**(6): 429-32.
- Messinger, M. (2005). Autoantikörper bei systemischen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen in: Thomas, L. (Hrsg.): Labor und Diagnose, 6.Aufl., TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, S. 1155-60.
- Mor-Vaknin, N., Punturieri, A., Sitwala, K. and Markovitz, D. M. (2003). "Vimentin is secreted by activated macrophages." Nat Cell Biol **5**(1): 59-63.
- Mottonen, T., Hannonen, P., Korpela, M., Nissila, M., Kautiainen, H., Ilonen, J., Laasonen, L., Kaipiainen-Seppänen, O., Franzen, P., Helve, T., Koski, J., Gripenberg-Gahmberg, M., Myllykangas-Luosujarvi, R. and Leirisalo-Repo, M. (2002). "Delay to institution of therapy and induction of remission using single-drug or combination-disease-modifying antirheumatic drug therapy in early rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **46**(4): 894-8.

- Nell, V. P., Machold, K. P., Eberl, G., Stamm, T. A., Uffmann, M. and Smolen, J. S. (2004). "Benefit of very early referral and very early therapy with disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis." Rheumatology (Oxford) **43**(7): 906-14.
- Nicaise Roland, P., Grootenboer Mignot, S., Bruns, A., Hurtado, M., Palazzo, E., Hayem, G., Dieude, P., Meyer, O. and Chollet Martin, S. (2008). "Antibodies to mutated citrullinated vimentin for diagnosing rheumatoid arthritis in anti-CCP-negative patients and for monitoring infliximab therapy." Arthritis Res Ther **10**(6): R142.
- O'Dell, J. R. (2002). "Treating rheumatoid arthritis early: a window of opportunity?" Arthritis Rheum **46**(2): 283-5.
- Ota, F., Maeshima, A., Yamashita, S., Ikeuchi, H., Kaneko, Y., Kuroiwa, T., Hiromura, K., Ueki, K., Kojima, I. and Nojima, Y. (2003). "Activin A induces cell proliferation of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **48**(9): 2442-9.
- Pincus, T., Callahan, L. F., Sale, W. G., Brooks, A. L., Payne, L. E. and Vaughn, W. K. (1984). "Severe functional declines, work disability, and increased mortality in seventy-five rheumatoid arthritis patients studied over nine years." Arthritis Rheum **27**(8): 864-72.
- Plotz, C. M. and Singer, J. M. (1956). "The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis." Am J Med **21**(6): 888-92.
- Poulsom, H. and Charles, P. J. (2008). "Antibodies to Citrullinated Vimentin are a Specific and Sensitive Marker for the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis." Clin Rev Allergy Immunol **34**(1): 4-10.
- Price, C. P. (2001). "Point of care testing." Bmj **322**(7297): 1285-8.
- Pugner, K. M., Scott, D. I., Holmes, J. W. and Hieke, K. (2000). "The costs of rheumatoid arthritis: an international long-term view." Semin Arthritis Rheum **29**(5): 305-20.
- Reilly, P. A., Cosh, J. A., Maddison, P. J., Rasker, J. J. and Silman, A. J. (1990). "Mortality and survival in rheumatoid arthritis: a 25 year prospective study of 100 patients." Ann Rheum Dis **49**(6): 363-9.
- Ronningen, K. S., Spurkland, A., Egeland, T., Iwe, T., Munthe, E., Vartdal, F. and Thorsby, E. (1990). "Rheumatoid arthritis may be primarily associated with HLA-DR4 molecules sharing a particular sequence at residues 67-74." Tissue Antigens **36**(5): 235-40.
- Sachs, L. (1999). "Angewandte Statistik". 9. Aufl., Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, S.85-8.
- Scott, D. L., Symmons, D. P., Coulton, B. L. and Popert, A. J. (1987). "Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years." Lancet **1**(8542): 1108-11.
- Sherrer, Y. S., Bloch, D. A., Mitchell, D. M., Young, D. Y. and Fries, J. F. (1986). "The development of disability in rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum **29**(4): 494-500.
- Shmerling, R. H. and Delbanco, T. L. (1991). "The rheumatoid factor: an analysis of clinical utility." Am J Med **91**(5): 528-34.
- Smolen, J. S. and Steiner, G. (2003). "Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis." Nat Rev Drug Discov **2**(6): 473-88.
- Snijders, G. F., Broeder, A. A., Bevers, K., Jeurissen, M. E., van Eerd, J. E. and van den Hoogen, F. H. (2008). "Measurement characteristics of a new rapid anti-

- CCP2 test compared to the anti-CCP2 ELISA." Scand J Rheumatol **37**(2): 151-4.
- Sokka, T., Kautiainen, H., Mottonen, T. and Hannonen, P. (1999). "Work disability in rheumatoid arthritis 10 years after the diagnosis." J Rheumatol **26**(8): 1681-5.
- Soos, L., Szekanecz, Z., Szabo, Z., Fekete, A., Zeher, M., Horvath, I. F., Danko, K., Kapitany, A., Vegvari, A., Sipka, S., Szegedi, G. and Lakos, G. (2007). "Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin by ELISA in rheumatoid arthritis." J Rheumatol **34**(8): 1658-63.
- Turesson, C., Jacobsson, L. T., Sturfelt, G., Matteson, E. L., Mathsson, L. and Ronnelid, J. (2007). "Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptides are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis." Ann Rheum Dis **66**(1): 59-64.
- Ursum, J., Nielen, M. M., van Schaardenburg, D., van der Horst, A. R., van de Stadt, R. J., Dijkmans, B. A. and Hamann, D. (2008). "Antibodies to mutated citrullinated vimentin and disease activity score in early arthritis: a cohort study." Arthritis Res Ther **10**(1): R12.
- van der Heijde, D. M. (1995). "Joint erosions and patients with early rheumatoid arthritis." Br J Rheumatol **34 Suppl 2**: 74-8.
- Vossenaar, E. R., Despres, N., Lapointe, E., van der Heijden, A., Lora, M., Senshu, T., van Venrooij, W. J. and Menard, H. A. (2004). "Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin." Arthritis Res Ther **6**(2): R142-50.
- Vossenaar, E. R., Radstake, T. R., van der Heijden, A., van Mansum, M. A., Dieteren, C., de Rooij, D. J., Barrera, P., Zendman, A. J. and van Venrooij, W. J. (2004). "Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages." Ann Rheum Dis **63**(4): 373-81.
- Waalder, E. (2007). "On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. 1939." Apmis **115**(5): 422-38; discussion 439.
- Wagner, E., Skoumal, M., Bayer, P. M. and Klaushofer, K. (2009). "Antibody against mutated citrullinated vimentin: a new sensitive marker in the diagnosis of rheumatoid arthritis." Rheumatol Int.
- Wiles, N. J., Lunt, M., Barrett, E. M., Bukhari, M., Silman, A. J., Symmons, D. P. and Dunn, G. (2001). "Reduced disability at five years with early treatment of inflammatory polyarthritis: results from a large observational cohort, using propensity models to adjust for disease severity." Arthritis Rheum **44**(5): 1033-42.
- Wordsworth, B. P., Lanchbury, J. S., Sakkas, L. I., Welsh, K. I., Panayi, G. S. and Bell, J. I. (1989). "HLA-DR4 subtype frequencies in rheumatoid arthritis indicate that DRB1 is the major susceptibility locus within the HLA class II region." Proc Natl Acad Sci U S A **86**(24): 10049-53.
- [www.dgkl.de/poct/index.html](http://www.dgkl.de/poct/index.html) (2009).
- Xue, C., Takahashi, M., Hasunuma, T., Aono, H., Yamamoto, K., Yoshino, S., Sumida, T. and Nishioka, K. (1997). "Characterisation of fibroblast-like cells in pannus lesions of patients with rheumatoid arthritis sharing properties of fibroblasts and chondrocytes." Ann Rheum Dis **56**(4): 262-7.
- Young, A. and Koduri, G. (2007). "Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis." Best Pract Res Clin Rheumatol **21**(5): 907-27.

## Anhang

### **Erklärung an Eides statt**

„Ich, Franziska Renger, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: ‚Ein POCT-Assay zur Diagnostik der Rheumatoiden Arthritis‘ selbst verfasst habe. Keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel wurden benutzt, sie wurde ohne die Hilfe Dritter verfasst und stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar.“

Berlin, 3. August 2009

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. sc. med. Dr. rer. nat. K. Egerer für die Überlassung des Themas und die Betreuung meiner Dissertation.

Bei Herrn Prof. Dr. G.-R. Burmester, Direktor der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, möchte ich mich für die Möglichkeit, an seiner Klinik die notwendigen Untersuchungen durchführen zu können, herzlich bedanken.

Danken möchte ich auch besonders Herrn Dr. Holger Bang, Orgentec, für die Mitteilung der Daten für die gesunden Probanden und für die Bereitstellung des POCT-Assays.

Herrn PD Dr. Eugen Feist von der Studienabteilung danke ich sehr für die Unterstützung bei den ersten Schritten der Studie und viele hilfreiche, begleitende Gespräche.

Frau PD Dr. M. Backhaus und Frau Follendorf aus dem Rheumadispenaire der Klinik sowie Herrn Dr. A. Natusch aus der Rheumaklinik Buch möchte ich für die Unterstützung bei der Patientenrekrutierung danken.

Frau B. Lehmann aus dem Rheumatologisch-immunologischen Labor danke ich herzlich für die Unterstützung bei der Bestimmung der ELISA für anti-MCV-AK und RF.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung danke ich Frau Dipl.-Math. Christine Gericke vom Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité.

Meinen Eltern und Großeltern danke ich für die Unterstützung meines medizinischen Weges, meinen Freunden Anne Schmidt, Dr. Stefanie Veit, Alexander Gross und besonders Sebastian Gmelin für viele konstruktive und motivierende Diskussionen von der ersten Idee bis zum letzten Punkt – danke.

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

## Publikationsliste

Poster:

Renger F, Bang H, Fredenhagen G, Natusch A, Backhaus M, Feist E, Egerer K, Burmester GR: „Anti-MCV antibody test for the diagnosis of rheumatoid arthritis using a POCT-immunoassay“ *Arthritis Rheum* 2008, 58: 769

Renger F, Bang H, Fredenhagen G, Natusch A, Backhaus M, Feist E, Egerer K, Burmester G: „Ein POCT anti-MCV Antikörper-Assay zur Diagnose der rheumatoiden Arthritis“, 36. Kongress der DGRh Berlin 2008, Abstractband, RA 2.01

Artikel:

Franziska Renger, Holger Bang, Eugen Feist, Gert Fredenhagen, Alexander Natusch, Marina Backhaus, Gerd-R. Burmester and Karl Egerer: “Immediate Determination of ACPA and Rheumatoid Factor – A Novel Point of Care Test for Detection of Anti-MCV Antibodies and Rheumatoid Factor using a Lateral-flow Immunoassay” wird eingereicht bei *Annals of Rheumatic Diseases*