



### Test-negatief case-control studies

Barbara Michiels, Vakgroep Eerstelijns- en Interdisciplinaire Zorg, Centrum voor Huisartsgeneeskunde, Universiteit Antwerpen

In een test-negatief case-control (TNCC)-studie vergelijkt men in een groep van deelnemers die allemaal aan een bepaald klinisch syndroom (bijvoorbeeld een infectieus ziektebeeld) lijden en getest worden voor een bepaalde uitlokkende factor (of pathogeen), de positief geteste (cases) met de negatief geteste (controls) personen om de effectiviteit van een beschermende maatregel (zoals vaccinatie) te meten. Dit soort onderzoek verschilt met een gewone (**nested**) **case-control (CC)-studie** (1) vooral in de definitie van de controlegroep. In een gewone CC-studie bestaat de controlegroep immers uit personen die een bepaald klinisch syndroom NIET hebben. De kans op vertekening is in een gewone CC-studie groter dan in een TNCC-studie omdat men in een TNCC-studie de test-negatieve controlegroep en de test-positieve groep op eenzelfde manier rekruteert uit dezelfde populatie. Bovendien is een TNCC-studie gemakkelijker uit te voeren dan een klassieke prospectieve cohortstudie (2). Test-negatief case-control-studies worden dan ook meer en meer gebruikt om post-marketing de effectiviteit van vaccins te bepalen. Vooral influenza- en covid-19-vaccins komen hiervoor in aanmerking, maar deze methode gebruikte men eerder al voor rotavirus- en pneumococcenvaccins (2).

*Onder welke voorwaarden kan een test-negatieve case-control studie uitgevoerd worden?*

Een belangrijke voorwaarde is natuurlijk dat er een duidelijk klinisch syndroom kan gedefinieerd worden, dat ontegensprekelijk bepaalt wie getest dient te worden en wie niet. In de studies met het griepvaccin wordt bijvoorbeeld een acute respiratoire infectie (eerder in eerstelijnssetting) of een ernstiger verlopende lage luchtweginfectie (eerder in hospitaalsetting) als klinisch syndroom gekozen, waaraan specifieke symptomen en ziekte tekens gekoppeld worden zoals bijvoorbeeld wel of geen koorts, hoest, aanwezigheid van crepitaties bij longauscultatie... om er maar enkele te noemen. Een TNCC-studie kan bijgevolg geen uitspraak doen over de effectiviteit van vaccins tegen asymptomatisch verlopende infecties en ook de setting waar de test wordt afgenomen is van belang om correct te kunnen extrapoleren.

Een tweede voorwaarde is dat er specifieke testen moeten gebruikt worden, die de aandoening (bijvoorbeeld een covid-19-infectie) duidelijk aantonen. Voor influenza en covid-19 beschikken we over een zeer specifieke PCR-test, zodat aan deze voorwaarde voldaan kan worden. Een test met lage sensitiviteit vormt een potentieel probleem wanneer het gaat om een weinig frequente aandoening omdat er in de test-positieve groep een gebrek aan deelnemers zou kunnen zijn om een betrouwbare uitspraak te doen over bijvoorbeeld het effect van een vaccin. Een minder gevoelige test zal daarentegen minder problematisch zijn wanneer de aandoening frequent voorkomt en wanneer men er bovendien vanuit gaat dat bij gevaccineerden en niet-gevaccineerden de gevoeligheid even laag is. Bij deze aanname kan men wel kanttekeningen maken. Een antigen (zelf)test is bij covid-19 bijvoorbeeld minder gevoelig dan een PCR-test, maar het aantal dagen dat de test positief kan zijn is ook korter in de gevaccineerde groep. Hierbij aansluitend is het dan ook belangrijk dat de test niet te lang na de start van de symptomen wordt afgenomen om een verschillende graad van vals-negatieve resultaten bij cases en controles te voorkomen. Ook wanneer men cases definieert als meer ernstige (complicaties van) aandoeningen zoals een opname op intensieve zorgen en/of sterfte kan het aantal vals-negatieve resultaten toenemen. Bij het aflijnen van een specifieke studieperiode is het bovendien ook belangrijk dat men kiest voor die periode dat er bewezen pathogeen circulatie is: dit is vooral van belang voor de respiratoire infecties, die in golven voorkomen zoals influenza, RSV, covid-19 (2).

Een derde voorwaarde is dat de vaccinatiestatus accuraat geregistreerd werd en dat de onderzoekers dit niet meer te hoeven achterhalen bij de geteste personen zelf, wat tot recall bias en misclassificatie bias zou kunnen leiden.

Zoals bij elk observationeel onderzoek kan er ook bij een TNCC studie vertekening optreden (1). Deze vertekening kan het gevolg zijn van de reden voor vaccinatie. Wanneer men met een vaccinatiecampagne bijvoorbeeld focust op de risicobevolking selecteert men gevaccineerden met een hogere kans op comorbiditeit die de immuniteit kan beïnvloeden. Ook kan er tussen de groep gevaccineerden en de groep niet-gevaccineerden een verschil optreden in de mate waarop men zich beschermt tegen infecties zoals bijvoorbeeld afstand bewaren, dragen van mondkapjes (3). Door stratificatie en het corrigeren voor cofactoren (via een regressievergelijking) proberen onderzoekers hieraan te verhelpen. Probleem is dat heel wat potentiële confounders niet (correct) in alle databanken worden geregistreerd: denk maar aan rookstatus en BMI.

Uit wat vooraf gaat, is het duidelijk dat een TNCC-studie die de effectiviteit van een vaccin wenst te onderzoeken alleen een uitspraak kan doen in het kader van een aandoening waarvoor medische hulp gezocht wordt. Maar, de kans dat een zieke contact zoekt met een zorgverlener kan gecorreleerd zijn met de vaccinatiestatus. Zowel gevaccineerden als niet-gevaccineerden kunnen meer of minder geneigd zijn om naar een arts te stappen en dit wegens verschillende redenen. Het is belangrijk dat de onderzoeker die bias tracht te achterhalen en ervoor probeert te corrigeren (3). Als een zieke persoon contact heeft met een zorgverlener, dan mag de kans dat die persoon getest wordt evenmin afhangen van vooringenomenheid van de zorgverlener. Deze zou zich kunnen laten leiden door de vaccinatiestatus, de ernst van de symptomen en/of comorbiditeit. Deze vorm van bias treedt vooral op als men in een TNCC-studie retrograad gebruik maakt van data die zijn verzameld in het kader van de opvolging van circulerende pathogenen/varianten, waarbij niet alle geïnfecteerde personen systematisch getest werden. Zo zullen peilartsen niet alle zieke patiënten testen vermits dit niet belangrijk is om meer te weten te komen over de circulerende pathogenen/varianten. Het is hierbij ook mogelijk dat men vooral de niet-gevaccineerden test omdat ervan uitgegaan wordt dat zij niet beschermd zijn tegen de pathogenen die men wil opvolgen.

Een juiste definitie van de controlegroep is ook van belang om valide uitkomsten te bekomen: de controlegroep kan bestaan uit diegenen die negatief testten op de onderzochte pathogeen/variant, maar waarbij er wel een andere variant, andere virale en/of bacteriële veroorzaker is aangetoond; of de controlegroep bestaat uitsluitend uit infecties zonder aantoonbare veroorzaker. De eerste groep is kleiner, maar specifiek en geniet de voorkeur wegens minder kans op selectiebias. In de tweede groep kunnen er immers ook personen met een COPD-exacerbatie, hartfalen, astma-aanval geïncludeerd worden. In de toekomst mogen we daarom ook bias verwachten in TNCC-studies die het effect van het influenzavaccin onderzoeken, wanneer de kans heel groot is dat iemand die gevaccineerd wordt tegen influenza ook een covid-19-vaccin krijgt toegediend. Door SARS-CoV-2-infecties uit de controlegroep te weren kan hieraan verholpen worden (2). Omgekeerd zal dit ook gelden voor studies die het effect van het covid-19-vaccin onderzoeken. Een van de assumpties bij TNCC-studies is dat de vaccinatie geen invloed heeft op de vatbaarheid (zowel negatief als positief) voor andere respiratoire infecties. Omdat in de test-negatieve controlegroep verschillende andere kiemen het infectieus syndroom kunnen veroorzaken, zou er al een groot en langdurig effect van één bepaalde kiem moeten optreden om de effectiviteit van het onderzochte vaccin (zoals influenza) op een substantiële manier te kunnen beïnvloeden (2).

## **Besluit**

In prospectieve observationele test-negatieve case-control-studies is een goede definitie van het klinisch syndroom en het gebruik van een specifieke test, naast het feit dat de beslissing tot testen niet afhangt van de vaccinatiestatus en dat er voldoende belangrijke confounders worden opgevolgd, bepalend om de gevonden resultaten als betrouwbaar en extrapolieerbaar te beschouwen. Deze studies kunnen alleen een uitspraak doen over een symptomatische aandoening waarvoor medische zorg gezocht en verkregen werd.

## Referenties

1. Michiels B. Voor- en nadelen van nested-case-control-onderzoek. *Minerva* 2016;15(4):105-6.
2. Chua H, Feng S, Lewnard JA, et al. The use of test-negative controls to monitor vaccine effectiveness: a systematic review of methodology. *Epidemiology* 2020;31:43-64. DOI: 10.1097/EDE.0000000000001116
3. Ainslie KE, Shi M, Haber M, Orenstein WA. On the bias of estimates of influenza vaccine effectiveness from test-negative studies. *Vaccine* 2017;35:7297-301. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.10.107