



Labornachrichten 1/2018

Diagnostik von Atemwegsinfektionen mittels Multiplex-PCR

Infektionen der Atemwege können insbesondere bei alten Menschen, Früh- und Neugeborenen, Immungeschwächten, oder Patienten mit Vorschädigungen der Lunge mit schweren Verläufen einhergehen, ebenso spielen respiratorische Erreger als Ursache nosokomialer Infektionen eine wichtige Rolle. Neben der konventionellen Anzucht von Bakterien mit Resistogramm bietet die schnelle, zielgerichtete Diagnostik insbesondere der viralen und schwer anzüchtbaren Erreger von Atemwegsinfektionen mittels PCR einen wichtigen Baustein im Hinblick auf eine zielgerichtete Therapie mit dem rationalen Einsatz von Antibiotika.

Wir können nun den Nachweis respiratorischer Erreger als Multiplex-PCR in unserem Hause anbieten. Hier können in einem Lauf folgende Panels untersucht werden:

Panel Resp. Viren 1: Influenza A, Influenza B, RSV, Parainfluenza 1-4, Rhinovirus

Panel Resp. Viren 2: Coronaviren (OC43, NL63, HKU-1, 229E, MERS), Parechovirus, Metapneumovirus, Adenovirus und Enterovirus

Panel Resp. Bakt.: B. Pertussis, B. Parapertussis, Chlamydomphila Pneumoniae, Mycoplasma Pneumoniae und Legionella (pneum. + spp.)

Parallel kann eine PCR auf Streptococcus pneumoniae durchgeführt werden.

Bei einem positiven Ergebnis kann von einer Atemwegsinfektion durch den betreffenden Erreger ausgegangen werden, ein negatives schließt eine Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit aus. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass die PCR nur das Vorhandensein der genetischen Information des Erregers nachweist, eine Aussage zu dessen Vermehrungsfähigkeit oder der Resistenzlage ist nicht möglich. Insbesondere unter einer laufenden Antibiose kann die

DNA bereits abgestorbener Bakterien noch nachgewiesen werden.

Zur Untersuchung sind respiratorische Materialien wie Rachenpülwasser, trockene Abstriche (ohne Gel, da durch das Transportmedium die Sensitivität besonders für RNA-Viren erheblich gemindert wird), Sputum oder eine bronchoalveoläre Lavage geeignet. Für Parechoviren (insb. bei Neugeborenen-sepsis) und Enteroviren sind ggf. auch Stuhl und Liquor, bei V.a. Adenovirus-Konjunktivitis Augenabstriche geeignet.

Alle Untersuchungen können zusammen oder bei Bedarf auch einzeln laufen und angefordert werden.



Leider wird die respiratorische Multiplex-PCR für die meisten der enthaltenen Erreger von der gesetzlichen Krankenversicherung **nicht** erstattet. Nach EBM sind folgende einzelne PCRs abrechenbar: Influenza A/B, Bordetella pertussis/parapertussis, Chlamydomphila pneumoniae und Mycoplasma pneumoniae. Für den Direktnachweis von RSV und Legionellen der Serogruppe 1 (hier aus Urin!) steht weiterhin der Antigenschnelltest zur Verfügung. Für weitere Fragen stehen Ihnen Frau Dr. A. Helmer (-168), Herr Dr. C. Lange (-140) und Herr Dr. B. Thoma (-148) zur Verfügung.

v. Willebrand-Syndrom

Das von Willebrand-Syndrom (vWS) ist die häufigste erbliche Blutgerinnungsstörung mit einem Auftreten bei bis zu 1% der Bevölkerung. Das vWS kann aber auch im Rahmen verschiedener Grunderkrankungen, z. B. dem Lymphoproliferativen Syndrom, kardiovaskulären Erkrankungen, dem Myeloproliferativen Syndrom und Neoplasien, erworben werden. Im Kindesalter spielen kardiale Shunt-Vitien und eine Valproinsäuretherapie eine Rolle.

Der von Willebrand-Faktor (vWF) ist ein adhesives Glykoprotein, das an der primären und sekundären Hämostase beteiligt ist. Es fördert die Adhäsion von Thrombozyten an das verletzte Subendothel und ist ebenfalls an der Thrombozytenaggregation beteiligt. Zusätzlich hat er als Trägerprotein für FVIII eine wichtige protektive Rolle. Im Blut wird vWF mit einer Halbwertszeit von 5-9 Stunden durch die Metalloproteinase ADAMTS13 (vWF-Cleaving-Protease) schnell abgebaut. ADAMTS13 zerlegt die Multimere in immer kleinere Multimere wodurch die Größe dieser Multimere reguliert wird.

	Häufigkeit	v. Willebrand-Faktor	Symptome
Typ 1	ca. 80 – 85 %	v. Willebrand-Faktor liegt im Blut in geringerer Menge als normal vor	leicht
Typ 2 (A, B, M, N)	ca. 15 – 20 %	v. Willebrand-Faktor genügend vorhanden, aber nicht ausreichend funktionsfähig	leicht bis mittelschwer
Typ 3	0,5 – 1,5 %	kein v. Willebrand-Faktor vorhanden	schwer

von Willebrand-Typen

Klinische Anzeichen für das vWS sind u. a. lang andauerndes Nachbluten, Nasenbluten oder häufige „blaue“ Flecken, mit unterschiedlichen Ausprägungen in Abhängigkeit des jeweiligen Haupttypes (Typ 1-3).

Das vWS wird in drei Haupttypen unterteilt. Typ 1 umfasst lediglich quantitative Defekte des VWF. Typ 2 ist sehr heterogen, da hier sämtliche qualitative Defekte des vWF einge-

schlossen sind; daher wird dieser Typ in die Subtypen 2A (Untergruppen IIA, IIC, IID und IIE), 2B, 2M und 2N aufgeteilt. Typ 3 ist durch völliges Fehlen des VWF im Plasma und in den Thrombozyten charakterisiert.

Für die Erkrankung gibt es den häufigeren autosomal-dominant (Typ 1 und 2, Ausnahme Untergruppe 2A/IIC) sowie einen selteneren autosomal-rezessiven (Typ 3) Erbgang, mit jeweils variabler Penetranz.

Typ 1

Petechien, Gelenk- oder Gastrointestinalblutungen werden beim vWS-Typ 1 selten beobachtet. Insbesondere nach operativen Eingriffen (Zahnextraction, HNO-OP) kommt es zu verstärkten Nachblutungen im Schleimhautbereich. Alle vWS-Laborparameter, vWF:Ag- sowie vWF:CBA-Werte, sind gleichermaßen erniedrigt, der Quotient vWF:CBA/vWF:Antigen sowie die Multimeranalysen sind normal.

Typ 2

vWS-Typ 2 ähnelt klinisch dem leichteren Typ 1, allerdings treten fast ausnahmslos Blutungskomplikationen nach Operationen auf. Es werden verschiedene Subtypen beschrieben:

Typ 2A

Typ 2A ist durch das Fehlen der großen Multimere mit einer Vielzahl von genetischen Defiziten (verminderte Resistenz gegen ADAMTS13) charakterisiert; erniedrigte Ratio der funktionellen Aktivität zur Konzentration.

Typ 2B

Typ 2B ist durch ein Defizit der großen Multimere mit verstärkter Thrombozyten-Agglutination bereits durch geringe Konzentrationen des Antibiotikums Ristocetin im plättchenreichen Plasma charakterisiert. Beim Typ 2B finden sich oftmals ausgeprägte Thrombozytopenien, die zu einer Verwechslung mit einer Immunthrombozytopenie führen können.

Typ 2M

Typ 2M zeigt zwar eine Präsenz aller Multimere, aber dazu eine verminderte Affinität an die Thrombozyten mit funktionellem Defekt in der primären Hämostase. Man findet eine erniedrigte Ratio der Ristocetin-Cofaktoraktivität zur

vWF-Antigen bei normaler Ratio von vWF:CBA/vWF-Antigen.

Typ 2N

Das vWS Typ Normandie (vWS 2N) ist eine besondere Form, die oftmals nur schwer von einer Hämophilie (*Pseudohämophilie A*) unterschieden werden kann. Hierbei ist lediglich die FVIII-Bindung des vWF gestört. Es resultiert ein verminderter FVIII. Da sämtliche anderen Parameter, einschließlich der Konzentration des vWF, normal sein können, ist dieser Typ von einer Hämophilie A nur durch den sog. F VIII-Bindungsassay abzugrenzen. In Einzelfällen kann der FVIII bei diesen Patienten auch im Bereich von 1% und damit im Bereich der schweren Hämophilie liegen.

Typ 3

Beim sehr seltenen vWS-Typ 3 werden in der Regel über massive Blutungskomplikationen mit Petechien, Gelenk- oder Gastrointestinalblutungen berichtet. Faktor VIII ist deutlich vermindert, vWF:Ag und vWF:CBA sind kaum mehr nachweisbar.

Laboruntersuchungen und Befundkonstellationen

Faktor VIII und der vWF verhalten sich entsprechend einem Akutphaseprotein; insofern steigen beide bei Entzündungen an, wodurch der Nachweis leichterer Formen in der frühen postoperativen und posttraumatischen Phase (bei Kindern auch nach der Punktion) sowie bei chronisch entzündlichen Erkrankungen erschwert wird. Als Probenmaterial für die Screeningtests werden ca. 10 ml Citratblut benötigt.

Konzentration des v. Willebrand-Faktor-Proteins (vWF:Ag)

Die Menge des vWF:Ag wird immunologisch bestimmt. Dieser Messwert erlaubt keine Aussage über die Funktionstüchtigkeit des vWF:Ag, ist aber für die Unterscheidung zwischen erniedrigtem und normalem, aber funktionsuntüchtigem vWF:Ag erforderlich.

Normbereich: Neugeborene: Erwachsene 50-160 %,

Aktivität des v. Willebrand-Faktors (Kollagen-Bindeassay, vWF:CBA)

Die Kollagenbindungs-Aktivität umfasst die Bindung der großen Multimere an Kollagen (verletzte Gefäßstelle) und

stellt somit am ehesten die biologische Aktivität des vWF dar. Der Test ist mittlerweile ausreichend standardisiert und automatisiert.

Normbereich: 40-250 %

Quotient vWF:CBA/vWF:Antigen

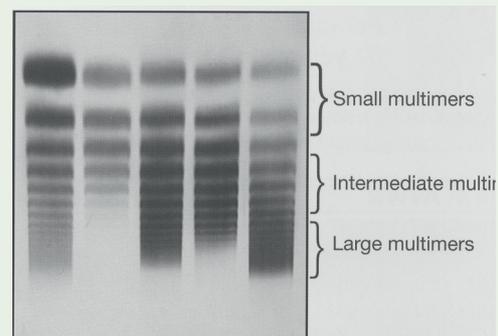
Der Quotient vWF:CBA/vWF:Antigen erlaubt eine Aussage über die vWF-Funktionsfähigkeit; damit ist ein vWS Typ 2A und 2B meist zuverlässig zu diagnostizieren; hier können die absoluten vWF:Ag- und vWF:CBA-Aktivitäten erhöht sein und nur der Quotient den entscheidenden Hinweis geben.

Der Grenzwert liegt bei 0,8, d. h. mindesten 80% des vWF:Ag sollten kollagenbindend sein. Niedrigere Werte sind verdächtig und sollten mittels Multimerenanalyse abgeklärt werden.

Normbereich: größer 0,8

Multimerenanalyse

Die Multimerenanalyse des v. Willebrand-Faktors wird elektrophoretisch bestimmt. Das sich dabei ergebende Bandenmuster lässt sofort die Anwesenheit bzw. Abwesenheit der großen Multimere erkennen, wobei die ersten 1-5 Banden den kleinen, die nächsten 6-10 Banden den mittelgroßen und die Banden >10 den großen Multimere entsprechen.



Multimerenanalyse

Aktivität des v. Willebrand-Faktors (Ristocetin-Cofaktor, vWF:RCF)

Ristocetin ist ein Antibiotikum, das die Aggregation von Blutplättchen in Anwesenheit des vWF auslöst, wobei die größten Multimere am meisten zu diesem Effekt beitragen. Die Fähigkeit des vWF, zusammen mit Ristocetin diesen Effekt zu bewirken, wird als Ristocetin-Cofaktor-Aktivität (vWF:RCF) bezeichnet. Der Test zur Bestimmung der Ristocetin-Cofaktor-



Aktivität liefert oft schwer reproduzierbare Ergebnisse, ist jedoch unerlässlich für die Diagnose des Typs 2M.

Normbereich: 50-150 %

Quotient vWF:RCF/vWF:Antigen

Beim vWS vom Typ 2M (s. oben) ist dieser Quotient relevant.

Normbereich: größer 0,8

Ristocetin-induzierten Thrombozytenaggregation (RIPA)

Die Messung der Ristocetin-induzierten Thrombozytenaggregation (RIPA) dient insbesondere zur Erfassung von vWF-Varianten mit erhöhter Affinität zum vW-Rezeptor der Thrombozyten (in erster Linie Typ 2B).

Faktor VIII-Bindungskapazität

Die Bestimmung der Faktor VIII-Bindungskapazität ist insbesondere bei einem speziellen Verdacht auf ein v. Willebrand-Syndrom vom Typ 2N (der phänotypisch als Hä-mophilie A erscheint) angezeigt.

Molekulargenetische Mutationsanalyse

Schließlich besteht auch die Möglichkeit für eine molekulargenetische Mutationsanalyse des vWF-Erbgutes zur Untersuchung von Gendefekten mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

Minirin®-Test

Minirin mobilisiert präsynthetisierten von Willebrand-Faktor aus den Endothelzellen, wobei sich die Wirkung bei wiederholter Gabe erschöpft. Der Minirin-Test wird diagnostisch durchgeführt, um den Typ eines vWS fest zu legen.

Bei einem Typ-1 steigt vWF sowohl quantitativ (vWF:Antigen) wie auch funktionell (z.B. vWF:CBA) an. Bei einem Typ-3 erfolgt hingegen kein Anstieg. Bei einem Typ 2 kommt es zu einer Verschärfung des Ungleichgewichts zwischen den quantitativen und funktionellen Untersuchungen. Bei Typ 2b ist dieser Test kontraindiziert, da es zu einem Thrombozytenabfall kommen kann.

Für Rückfragen steht Ihnen Frau Dr. Herzum (-189) oder Herr Dr. Schauseil (-129) zur Verfügung.

Editorial

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Bereits seit Monaten versuchen unsere Politiker, die Entscheidungen der Wähler zur Bildung einer neuen Regierung umzusetzen. Die Forderung nach Einführung einer Bürger-versicherung scheint weiterhin eine „Herzensangelegenheit“ einer der Sondierungsparteien zu sein. Die niedergelassene Ärzteschaft, aber auch viele Kollegen in den Krankenhäusern sehen eine solche Bürgerversicherung eher kritisch. Insbesondere befürchtet man eine Angleichung der Honorare, nur dass in einer Bürgerversicherung dann die schon augenblicklich schlechtere Vergütung im EBM-Bereich für alle Versicherten gilt.

Mit kollegialen Grüßen

Ihr Stephan Schauseil

LABOR DÜSSELDORF

MEDIZINISCHE LABORATORIEN DÜSSELDORF

Nordstraße 44 • 40477 Düsseldorf

Telefon (0211) 4978-0, Fax: (0211) 4930612

Email: info@labor-duesseldorf.de

ärztliche apparate-gemeinschaft

Zimmerstraße 19 • 40215 Düsseldorf

Telefon (0211) 933800, Fax (0211) 9338033

Email: info@apparategemeinschaft.de

Ich möchte das neue Leistungsverzeichnis.

Ich möchte den Newsletter per E-Mail erhalten.

Ich bitte um den Besuch des Außendienstes.

Absender: