

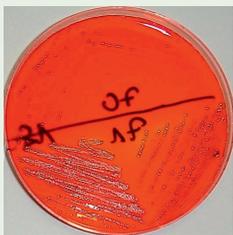


Labornachrichten Juli 2017

Umstellung der Diagnostik darmpathogener E.coli

Ab sofort stellen wir die Diagnostik darmpathogener E.coli von kulturell-serologischen Verfahren auf den molekularbiologischen Nachweis mittels PCR um.

Enteropathogene E.coli (EPEC) gehören zu den häufigsten Durchfallerregern weltweit und spielen besonders bei Kindern und Reiserückkehrern eine entscheidende Rolle. Klassische EPEC sind häufig mit bestimmten E.coli-O-Serogruppen assoziiert, wobei die Zugehörigkeit zu diesen bislang Leitmerkmal der Diagnostik war. Jedoch sind nicht alle diesen Serogruppen zuzuordnenden Stämme tatsächlich pathogen, und ebenso gibt es weitere pathogene Stämme, die nicht zu diesen Serogruppen gehören. Die phänotypischen Methoden konzentrieren sich auf den Nachweis klassischer EPEC, die in Deutschland dank hoher Hygienestandards mittlerweile selten geworden sind. Viele sogenannte atypische EPEC werden nicht erfasst. Der Pathogenitätsfaktor wird bei uns nun molekularbiologisch direkt nachgewiesen. Leitmerkmal ist hier der Nachweis des eae-Gens (Intimin). Die klassischen EPECs verfügen zusätzlich über ein EAF-Virulenzplasmid, welches bündelförmige Fimbrien (BfP) kodiert.



Shigatoxinbildende E.coli (STEC, auch Verotoxin- bildend genannt (VTEC)) stellen eine genetisch heterogene Gruppe von E.coli dar, deren Gemeinsamkeit in der Fähigkeit zur Bildung von Shigatoxinen liegt.

Aufgrund ihrer pathogenetischen Heterogenität wurde versucht, sie in weitere Untergruppen zu unterteilen (EHEC (eae und stx1/2 positiv), EDEC (Ödem-verursachende E.coli)). In Deutschland gilt nach IfSG die Bezeichnung EHEC für alle shigatoxinbildenden E.coli. Das Krankheitsbild reicht von leichter Gastroenteritis bis hin zur hämorrhagischen Kolitis mit Entwicklung eines Hämolytisch Urämisches Syndroms (HUS).

Die bisherige Diagnostik stützte sich auf den Nachweis des Shigatoxins im ELISA. Dieser wird nun vom spezifischeren und sensitiveren molekularbiologischen Nachweis des Shigatoxins abgelöst (stx1/stx2).

Enteroinvasive E.coli (EIEC) zeichnen sich durch Invasionsgene (ipaH) aus, die auch in Shigellen vorkommen. Eine Infektion mit Shigella dysenteriae Typ1 ist durch den gleichzeitigen Nachweis von ipaH und stx1/stx2 charakterisiert.

EHEC und sonstige darmpathogene E.coli sind nach IfSG §7 (Labormeldung) meldepflichtig.

Die Untersuchung wird automatisch im Rahmen der Diagnostik auf pathogene Erreger im Stuhl bei Kindern bis zu drei Jahren und blutigen Stühlen durchgeführt und kann darüber hinaus gesondert angefordert werden.

Für Rückfragen stehen Ihnen Fr. Dr. Helmer (0211-4978-168), Herr Dr. Lange (0211-4978-140) und Herr Dr. Thoma (0211-4978-148) zur Verfügung.

Zöliakie

Ursache der Zöliakie ist eine durch das Immunsystem vermittelte Systemerkrankung, die bei genetisch anfälligen Personen Unverträglichkeitsreaktionen gegen das in Weizen, Roggen, Dinkel und Gerste vorkommende Klebereiweiß Gluten hervorruft. Bestandteil des Glutens ist Gliadin, ein Prolamin; Prolamine sind spezifische Getreideeiweiße mit einem hohen Anteil an den Aminosäuren Prolin und Glutaminsäure. Das im Endomysium, fibrillären Strukturen auf glatten Muskelfasern der Darmschleimhaut, lokalisierte Enzym Tissue-Transglutaminase (tTG) modifiziert die Gliadinpeptide, die dann eine lokale Immunreaktion mit Aktivierung intestinaler T-Zellen und Antikörperbildung verursachen.

Umweltfaktoren wie Pilzinfektionen oder Alkoholkonsum können im Erwachsenenalter eine erhöhte Aktivität der tTG bewirken und somit die Entstehung der Zöliakie fördern.

Gastrointestinale Symptome, aber auch extraintestinale Krankheitserscheinungen (z. B. die Dermatitis herpetiformis Duhring) können durch eine Zöliakie verursacht werden. Die Prävalenz ist großen geographischen Schwankungen unterworfen und liegt in Deutschland bei etwa 1:500 mit einer Bevorzugung des weiblichen Geschlechts. Allerdings vermutet man, dass nur etwa 10–20% der betroffenen Patienten umfassend diagnostiziert sind.

Die Diagnose der Zöliakie erfolgt serologisch durch den Antikörpernachweis, der HLA-Übereinstimmung und - bei weniger eindeutiger Serologie - durch eine Endoskopie mit histologischer Klassifizierung. Unter glutenfreier Kost regeneriert die Dünndarmschleimhaut vollständig, klinische Symptome sowie zöliakiespezifische Antikörper können sich bessern bzw. vollständig zurückbilden.

Die neue Leitlinie der ESPGHAN (European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) differenziert im diagnostischen Vorgehen zwischen erkrankten Patienten und solchen mit einem erhöhten Risiko für Zöliakie; sie unterscheidet klassische, atypische, asymptomatische, refraktäre und frühe Formen.

Die klassischen intestinalen Symptome der Zöliakie bestehen in Durchfällen, Gewichtsverlust und Malabsorptionsstörungen, treten bevorzugt im Säuglings- oder Kleinkindalter (erstes bis fünftes Lebensjahr) auf, oft verbunden mit Gedeihstörungen, Wachstumsverzögerung und endokrinen Störungen.

Bei etwa 40% der erwachsenen Betroffenen fehlen gastrointestinale Symptome vollständig und man spricht von einer atypischen Zöliakie mit oligo- oder monosymptomatischem Verlauf. Zu den häufigsten extraintestinalen Symptomen zählen Osteoporose, chronische Transaminasenerhöhung, Arthritis, psychiatrische Auffälligkeiten und eine Eisenmangelanämie. Erytheme, Plaques und herpetiformen Bläschen der Dermatitis herpetiformis Duhring treten bei etwa 5 bis 10 % aller Zöliakiepatienten auf.

Von einer asymptomatischen oder stummen Zöliakie spricht man bei positiven Antikörperbefunden, den typischen HLA-Befunden (s. auch Diagnose) oder charakteristischen Befunden in der Dünndarmbiopsie ohne Auftreten von Krankheitssymptomen.

Auch bei der latenten Verlaufsform der Zöliakie finden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung nahezu symptomfreie Patienten. Anders als bei dem asymptomatischen Verlauf der Zöliakie haben diese Patienten in der Vergangenheit typische intestinale Symptome einer Zöliakie gezeigt, die sich jedoch auch unbehandelt zurückgebildet haben.

Therapierefraktäre Verlaufsformen der Zöliakie finden sich insbesondere beim klassischen und atypischen Verlauf der Zöliakie, wenn bei positiver Serologie und charakteristischer Histologie kein erkennbares Ansprechen der Erkrankung auf glutenfreie Kost erreicht werden kann.

Als eine frühe, seronegative Verlaufsform werden solche Varianten bezeichnet, bei denen Patienten eine typische Klinik einer Zöliakie aufweisen und auch schnell auf die glutenfreie Diät ansprechen. Der Krankheitsprozess hat erst kurzfristig eingesetzt, sodass bei dieser Verlaufsform Antikörper noch nicht gebildet wurden. Die Patienten weisen die typischen HLA-Merkmale auf.

Die Diagnose der Zöliakie stützt sich labormäßig auf eine Kombination aus:

- Nachweis Zöliakie-spezifischer Antikörper,
- Nachweis typischer HLA-DQ-Risikoallele, und wird ergänzt durch:
 - Klinik und (Familien)-Anamnese,
 - histologischem Nachweis

Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase (tTG), bzw. endomysiale Antigene (EMA) sowie Antikörper gegen Gliadin analoge Fusionspeptide (GAF) sind bei weit über 90 % der Patienten beschrieben. Antikörper gegen Gliadin richten sich gegen ein exogenes Antigen und sind daher keine Autoantikörper. Vor der Untersuchung auf zöliakiespezifische Antikörper sollte der Patient glutenhaltige Lebensmittel zu sich nehmen, da sonst bei „Antigenkarenz“ falsch negative Befunde auftreten können. Ein selektiver IgA-Mangel sollte durch Bestimmung des Gesamt-IgA ausgeschlossen werden.

Die Bestimmung der Antikörper gegen tTG sowie gegen deamidiertes Gliadin (GAF) erfolgt als Enzymimmunoassay, der gegen Endomysium als IFT, jeweils mit Differenzierung zwischen IgG und IgA. Die höchste Krankheitsspezifität haben Antikörper des IgA-Isotyps. Ein negatives Ergebnis der tTG-

IgA-Bestimmung ist nur bei normal hohen Gesamt-IgA-Konzentrationen relevant.

Folgende Tests werden in unserem Laboratorium durchgeführt:

1. Antikörper gegen Gewebstransglutaminase Typ 2 tTG-IgA (EIA): Test der ersten Wahl, diagnostischer Suchtest bei Patienten ohne IgA-Mangel
2. Antikörper gegen deamidierte Gliadin-Peptide (Gliadin analoge Fusionspeptide) IgG und IgA (EIA): zusätzliche Verbesserung der Sensitivität insbesondere bei Patienten mit IgA-Mangel
3. Antikörper gegen Endomysium (EMA)-IgA (IFT): nur als Bestätigungstest bei 10-fach erhöhtem tTG-IgA; zusammen mit positiver HLA-Serologie Diagnosesicherung auch ohne Dünndarmbiopsie (s. u.), spezielle Anforderung notwendig
4. Antikörper gegen Gewebstransglutaminase Typ 2 tTG-IgG (EIA): zusätzlich bei Patienten mit IgA-Mangel und negativem tTG-IgA, spezielle Anforderung notwendig

Bei Anforderungen „Gluten-Ak, Zöliakie, Sprue etc.“ werden in unserem Labor die Antikörpertests gemäß 1. und 2. durchgeführt.

Der überwiegende Teil der Zöliakie-Patienten sind HLA-DQ2- oder -DQ8-positiv. Personen, die diese Risikoallele nicht tragen, leiden höchstwahrscheinlich nicht an Zöliakie („Ausschlussdiagnostik“). Da auch ca. 30 % aller Gesunden diese Merkmale tragen, ist die HLA-Typisierung erst nach dem positiven Antikörpernachweis zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose „Zöliakie“ geeignet. Die HLA-Genotypisierung kann unabhängig vom Entzündungszustand erfolgen.

Gemäß den neuen Leitlinien der ESPGHAN kann bei einer Symptomatik mit gastrointestinaler Manifestation und sehr hohen zöliakiespezifischen Antikörpertitern die Diagnose einer Zöliakie ohne Durchführung einer Biopsie gestellt werden. Dies beinhaltet im Einzelnen:

- tTG2-IgA-Titer mindestens das 10-fache des oberen Grenzwerts zum normalen (>200 RE/ml),
- Bestätigung der Seropositivität durch Bestimmung von EMA-IgA in einer 2. Blutprobe,
- HLA-DQ2 und/oder -DQ8 positiv, ebenfalls aus der 2. Blutprobe,

- Klassische gastrointestinale Symptome mit chronischer Diarrhö, Steatorrhö sowie Gedeihstörungen

Therapeutisch ist eine konsequente, lebenslang glutenfreie Diät einzuhalten; alle Lebensmittel mit Anteilen aus Weizen, Roggen, Dinkel und Gerste sind untersagt. Erlaubt sind Reis, Hirse, Mais, Hafer oder Buchweizen, wenn die entsprechenden Produkte nicht mit Weizen, Roggen, Gerste o. ä. verunreinigt wurden. Für die Antikörpernachweise werden 2 ml Serum, für die HLA-DQ-Typisierung 2 ml EDTA-Blut sowie eine Einwilligungserklärung benötigt. Für Rückfragen steht Ihnen Herr Dr. Schauseil unter 0211-4978-129 gerne zur Verfügung.

Fragmentozyten, Akanthozyten und Stechapfelformen

Die Unterscheidung zwischen Akanthozyten, Fragmentozyten und harmlosen artifiziellen Stechapfelformen ist auch für den geübten Untersucher nicht immer einfach, kann aber in einzelnen Fällen lebenswichtig sein. Dabei ist es ganz wichtig, dass der Ausstrich möglichst zeitnah nach der Blutentnahme angefertigt wird.

Akanthozyten und Fragmentozyten stehen oft kausal in Verbindung mit chronischen Krankheitsbildern. Fragmentozyten kommen aber bei Krankheitsbildern vor, die ein schnelles Reagieren und eine umgehende Behandlung verlangen.

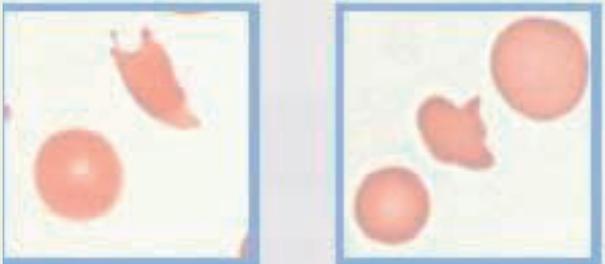
Fragmentozyten



Als Fragmentozyten (Schistozyten) bezeichnet man beschädigte Erythrozyten, die nach unauffälliger Erythropoese nachträglich in der Peripherie geschädigt wurden. Ein Fragmentozyt weist noch eine gesunde konvexseitig, glatt begrenzte intakte Seite auf, wohingegen die abgerissene Konkavseite mit dornartigen oder stacheligen Ausziehungen fetzenartig deformiert ist. Solche mechanische Schädigungen der Erythrozyten kön-

nen bei Herzklappenfehlern, künstlichen Herzklappen, Gefäßprothesen sowie in Folge bestimmten Erkrankungen wie der thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura, dem hämolytisch-urämischem Syndrom oder ausgedehnten Thrombosen auftreten. Fragmentozyten dürfen nicht mit Akanthozyten (s. dort) verwechselt werden.

Akanthozyten



Alle Bilder mit freundlicher Genehmigung der FA. Sysmex: © Copyright 2016 – Reinhold Herwartz, Prof. Dr. med. Roland Fuchs, Universitätsklinikum Aachen AÖR, Klinik für Hämatologie, Onkologie, Hämostaseologie und Stammzelltransplantation

Die Bezeichnung Akanthozyten beschreibt pathologische deformierte Erythrozyten, die ein stacheliges Aussehen (Stachelzellen) zeigen. Solche Ausziehungen entstehen in Folge eines Missverhältnisses einer zu großen Zellmembran gegenüber einem zu kleinen Zellvolumen; sie können in Folge bestimmter Lebererkrankungen oder auf Grund einer Störung im Phospholipidmetabolismus auftreten. Stachelzellen finden sich bei Neuroakanthozytose (u. a. Chorea Huntington, McLeod-Syndrom), Patienten mit Abetalipoproteinämien oder nach einer Milzentfernung. Einzelne Familien zeigen auch vererbte „Stachelzellen“ ohne sonstige klinische oder labormäßige Auffälligkeiten. Akanthozyten müssen von Fragmentozyten und Stechapfelformen differenziert werden. Die Ausziehungen bei Akanthozyten sind unregelmäßiger verteilt und unterscheiden sich zudem in ihrer Größe von den Stechapfelformen (s. dort).

Stechapfelfellen

Als Stechapfelfellen oder Echinozyten werden deformierte Erythrozyten bezeichnet, die zahlreiche stumpfe Fortsätze aufweisen, die an Stechäpfel erinnern. Sie können als Artefakte durch Trocknungs- und Schrumpfungsvorgänge oder bei der Lagerung von Blutkonserven entstehen und haben keine diagnostische Bedeutung. Für Rückfragen steht Ihnen Herr Dr. Schauseil unter 0211-4978-129 gerne zur Verfügung.

Editorial

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Die neue Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ) soll, möglicherweise noch in diesem Jahr, kurz vor der Fertigstellung stehen. Zeitgerecht ist sie schon lange nicht mehr, allerdings ist die Herausforderung, für die neue (GOÄ) über 5 000 Leistungsgeldenden zu überprüfen und mit den Fachgesellschaften und Verbänden zu konsentieren, hoch. Was die GOÄ den Ärzten wirtschaftlich bringt, bleibt jedoch weitgehend unbekannt. Durchgesickert ist, dass das Honorarvolumen gerade um 5,8 % steigen soll und technische Leistungen, besonders der M2-Laborbereich, deutlich abgewertet werden soll. Gerade dort sind die Leistungserbringer die niedergelassenen Ärzte in ihren Laborgemeinschaften, die die so entstandenen wirtschaftlichen Verluste erst einmal kompensieren müssen. Es bleibt zu hoffen, dass die Fachgesellschaften dies in ihrer Argumentation berücksichtigen werden.

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@apparatgemeinschaft.de

- Ich möchte das neue Leistungsverzeichnis.
- Ich bin an der Einrichtung der LabApp interessiert.
- Ich möchte den Newsletter per E-Mail erhalten.
- Ich bitte um den Besuch des Außendienstes.

Absender: