



Bericht über die Jahrestagung der BNLD

Am 20. Juni 2009 fand die Jahrestagung der Berufsvereinigung der Naturwissenschaftler in der Labordiagnostik e.V. (BNLD) - wie schon in den Jahren zuvor - im Rohrbacher Schlösschen in Heidelberg statt. In bewährter Form verknüpfte diese Veranstaltung hochrangige Fachfortbildung am Vormittag unter der Moderation von Prof. Dr. Ralf Lichtinghagen mit der berufspolitischen orientierten Mitgliederversammlung am Nachmittag.

Den Fortbildungsteil unter dem Thema „Moderne Infektions- und Sepsisdiagnostik in der Intensivmedizin“ eröffnete Frau Dr. Doris Schmidt aus Hannover mit einem Überblick über Zytokine und Infektionsmarker im intensivmedizinischen Monitoring. 154 000 Sepsisfälle mit 60 000 Toten jährlich in Deutschland beweisen die Brisanz dieses Themas, da eine rechtzeitig erkannte Sepsis in der Regel auch behandelbar ist. In der Kausalkette von der unerkannten Infektion über den explosionsartigen Anstieg von Mediatoren bis hin zum Organschaden und schließlich Organversagen steht die Erkennung der Immunreaktion im Mittelpunkt des Interesses. Nur so ist ein früher Therapiebeginn möglich.

Sepsis ist eine klinische Diagnose, wobei eine Kombination verschiedener Laborparameter diese Diagnose untermauern kann. Interleukin 6 (IL-6) ist als frühzeitiger Entzündungsmarker geeignet, da es bereits ein bis zwei Stunden nach Beginn der Immunreaktion seinen Maximalspiegel erreicht und damit einen Tag früher als das C-reaktive Protein (CRP), dessen Produktion erst in der Leber erst durch IL-6 induziert wird. Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP) wird bei nicht-viralen Infektionen ebenfalls induziert und ist zur Keimelimination unverzichtbar. In einem Selbstversuch konnte gezeigt werden, dass in einem intakten Immunsystem IL-6 bereits nach zwei Stunden mit einer Halbwertszeit von einer Stunde wieder abfällt. Zur Sepsisdiagnose scheint aus diesem Grund nur die simultane Messung eines Markerpanels geeignet zu sein, wie es in den Leitlinien der Neonatologie durch die Aufnahme der Parameter IL-6 oder IL-8 und CRP auch empfohlen wird. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss zwingend die verwendete Methode berücksichtigt werden, weil wegen der fehlenden Standardisierung keine Vergleichbarkeit besteht und die entsprechenden Ergebnissen um den Faktor 1,5 differieren können.

Interleukin-6 kann auch bei der Focussuche eingesetzt werden. So konnte gezeigt werden, dass seine intrathekale Synthese zeitlich vor der Synthese im Blut liegt es als Interpretationshilfe für die Meningitisdiagnostik eingesetzt werden kann. Auch als möglicher prädiktiver Faktor zur Erfassung des Vasospasmusrisikos nach Subarachnoidalblutung kann es eingesetzt werden, ebenso für die Risikostratifizierung in der Traumatologie. Möglich ist sogar der Einsatz der IL-6-Messung im Fruchtwasser. In der Intensivmedizin zeichnet sich IL-6 als früher, dynamischer Marker, dessen Anstieg und Abfall dem CRP um 24 Stunden vorausleitet.

Der Einsatz von LBP als Infektionsmarker erfordert zumeist eine Verlaufsbeurteilung, da auch chirurgische Eingriffe ohne Infektion LBP-Anstiege zur Folge haben. Treten in Folge eines Eingriffs Komplikationen auf, so ist nicht nur der LBP-Anstieg ausgeprägter, sondern vor allem der Abfall verzögert. Auch lokale Infektionen können LBP-Anstiege verursachen, ohne dass dabei IL-6- oder Procalcitonin (PCT)-Erhöhungen zu diesem Zeitpunkt nachweisbar sind. Die Individualität der LBP-Verläufe macht die Verwendung von cut-off-Werten unmöglich, sondern erzwingt die Beurteilung des dynamischen Verlaufs.

PCT wird durch Cytokine (vor allem durch $\text{TNF-}\alpha$) induziert und ist deshalb bei jedem „Systemischen inflammatorischen Response-Syndrom“ (SIRS) erhöht. Eine Differenzierung von Infektion und SIRS gelingt weder mit PCT noch mit IL-6, sondern nur mit LBP. PCT korreliert aber mit dem Schweregrad einer Infektion und erlaubt damit die Unterscheidung von Sepsis und schwerer Sepsis. Die Angabe von Grenzwerten für Procalcitonin ohne Angabe der Methodik ist unverantwortlich, da die verschiedenen Methoden um den Faktor 2 differieren können. Der Stellenwert der Endotoxinbestimmung im Rahmen der Sepsis-Diagnostik ist gegenwärtig noch nicht zu bewerten.

Im Anschluss referierte Dr. Sven Schaffer aus Wiesbaden über neue Entwicklungen beim molekularbiologischen Nachweis von Sepsiserregern. Ein Verfahren zur Erregerdetektion, das auf PCR und Massenspektrometrie beruht, wurde von Isis Pharmaceuticals entwickelt und unter dem Namen IBIS T5000 in Amerika eingeführt. Die Firma Abbott hat dieses Verfahren übernommen und wird es unter dem Namen PLEX-ID vertreiben. Es erlaubt eine Erregeridentifizierung ohne Anzucht innerhalb von 6 bis 8 Stunden.

Während klassische Amplifikationstechniken darauf basieren, dass die spezifische Hybridisierung durch Fluoreszenz-Nachweis der Elongationsprodukte erfolgt, werden bei der neuen Technik hochkonservierte ribosomale DNA-Bereiche amplifiziert und die erregerspezifischen Produkte durch Massenspektrometrie identifiziert. Mit einer kleinen Anzahl von PCR-Reaktionen im Mikrotiterplattenformat ist es so möglich, eine Erregeridentifizierung durchzuführen.

Beispielsweise könnten auf Grund der Masse eines Vorwärtsstranges 150 mögliche Basensummenformeln rechnerisch möglich sein und ebenso 150 für den Rückwärtsstrang; die Kombination beider Stränge erlaubt dann aber jeweils nur eine mögliche Basensummenformel, die Grundlage der Identifizierung wird. Mit acht verschiedenen Primern ist die Differenzierung aller Bakterien auf diese Art möglich. Zur Detektion wären bereits vier Primer ausreichend, die Differenzierung erfordert aber acht. Auch die Differenzierung aller Pilze ist auf der Basis von 8 rRNA-Primern möglich. Nur bei Viren ist eine universelle PCR nicht möglich. Hier benötigt man für jede Familie einen eigenen Kit. Der Kit für die Influenza-Viren war die Grundlage der Entdeckung der neuen Schweinegrippe, da hierbei ein Molekulargewicht detektiert wurde, das bisher nicht bekannt war.

Der Kit zur Differenzierung der Sepsiserreger umfasst neben den 8 Primern für die Identifizierung weitere 8 Ansätze zur Erfassung der wichtigsten Resistenzmechanismen.

Wie bei anderen Firmen auch benötigt die Technik eine eigene Produktlinie, da Kontaminationen in allen Reagenzien beseitigt werden müssen. Allerdings erlaubt ein Schwellenwert in vielen Fällen die Unterscheidung zwischen Kontamination und Infektion. Zur Zeit laufen klinische Studien, mit einer Vermarktung der Tests ist 2011 zu rechnen.

Am berufspolitischen Nachmittag standen die Diskussionen um das Gendiagnostikgesetz im Vordergrund. Durch die Teilnahme an mehreren Anhörungen und mit zahlreichen Interventionen konnte die BNLD zwar erreichen, dass nur die Beauftragung einer genetischen Untersuchung mit dem Arztvorbehalt belegt wurde, nicht jedoch die eigentlichen Untersuchungen. An einer Vielzahl an Ungereimtheiten konnte die BNLD leider nichts ändern. Die Umsetzung des Gesetzes in den Alltag erfordert noch reichlich Klärungsbedarf. Die BNLD wird in Kürze in dieser Zeitschrift wichtige Punkte im Zusammenhang mit dem Gendiagnostikgesetz noch ausführlicher erläutern.

Bei der Neufassung der Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV) zur Inkraftsetzung der neuen „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen“ (RiliBÄK 2008) konnte die BNLD nicht erreichen, dass nur Teil B1 in der Verordnung genannt wird; dennoch ist die Nennung von ausschließlich Teil A und B1 eine Verbesserung, da nicht automatisch zukünftige Teile verbindlich werden und die internen Regelungen der Bundesärztekammer weiterhin intern bleiben.

Bei den abschließenden Neuwahlen wurden die gewählten Vorstandsmitglieder alle in ihrem Amt bestätigt, so dass aktuell kein Personalwechsel erfolgt.

Walter Bauersfeld