Klinische Chemie & Laboratoriumsdiagnostik
Vorlesung: Hepatitis und HIV

Dr. med. Michael Erren

Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33
D-48149 Münster
Telefon: 0251 83-47233
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.uni-muenster.de
erren@uni-muenster.de

Sommersemester 2012 - 1 -

Hepatitiden

- Infektiös:
  Primär hepatotrop (diffus, nicht eitrig):
  - Hepatitis Viren (keine Kreuzreaktivität)
    - A, E: nur akute Hepatitis, keine Virusträger
    - B, C, D: chronische Hepatitis, Virusträger

  Sekundär hepatotop (Begleithepatitis):
  - Viral : EBV, CMV, (HSV, VZV), Gelbfieber, Dengue-Fieber
  - Bakteriell : Leptospirose, Brucellose
  - Parasitär : Malaria, Amöbiasis, Echinokokkose, Leberegel
- Toxisch:
  Alkohol, Arzneimittel, Gifte
- Sonstige:
  Autoimmune Hepatitiden, hereditäre Stoffwechselkrankheiten, …

- 2 -

Akute Virushepatitis: Klinik

Asymptomatisch (70%), insb. Kinder

Prodromalstadium (1 Woche)
- Grippale Symptome
- Gastrointestinale Beschwerden
- Ev. Athralgien/Exanthem (HBV 10%)

Organmanifestation (4 - 8 Wochen)
- Häufig Lebervergrößerung
- Ev. Milz-/Lymphknotenvergrößerung (15%)
- Ikterischer Verlauf (30%; < 10% Kinder)
  (Urin, Stuhl, Ikterus, Pruritus)

- 3 -

Labor

- GPT > GOT (1.000 - 3.000 U/l; De Ritis Quotient GOT/GPT< 1)
- Serum: dir. Bilirubin ↑; Urin: dir. Bilirubin + Urobilinogen↑
- Ev. γ-GT ↑, aP ↑ (Cholestatische Verlaufsform)
- Serumeisen↑, γ-Globuline↑ (IgG)
- Ev. Lymphozyten↑
- Ev. BSG↑, CRP↑, IL6↑
- Leberinsuffizienz: PCHE↓, Quick↓, Albumin↓
- Spezifische Serologie: IgG alt (Immunstatus)
  IgM frisch oder HBV-Reaktivierung

- 4 -

Virushepatitis	A	B	C	D	E
Genom	RNA zytopathisch	DNA immunologisch	RNA zytopathisch	RNA zytopathisch	RNA zytopathisch
Übertragungsweg	fäkal-oral	parenteral Sexuell Perinatal	parenteral (sexuell) perinatal	parenteral	fäkal-oral (Tier-Reservoir)
Fulminant	0,2% - 3% (10%)	1% (10%)	selten	>2%	3% (20%)
Chronisch, Zirrhose, Karzinom	nein	ja	ja!!!	ja	nein
Impfung aktiv/passiv	ja/ja	ja/ja	nein/nein	(nein/nein)	ja/nein
Antivirale Therapie (akut/chronisch)	nein	ja	ja	-	nein

- 5 -

Hepatitis A

Erreger
- RNA-Virus,
  sehr resistent (Kälte, Meerwasser, Trockenheit, seifenresistent)

Epidemiologie
- en-/epidemisch, sporadisch (Urlaubsrückkehrer!)
- Entwicklungsländer, Süd-Nord-Gefälle

Infektion
- fäkal-oral
- Trinkwasser/Speisen (Fäkalien gedüngtes Gemüse/Salate, Meeresspeisen)
- Selten: parenteral (während Virämie), sexuell (anal-orale Kontakte)

Erkrankung
- Selten fulminant, nie chronisch, lebenslange Immunität

Prophylaxe/Therapie
- aktive/passive Impfung (last minute), keine spezifische Therapie

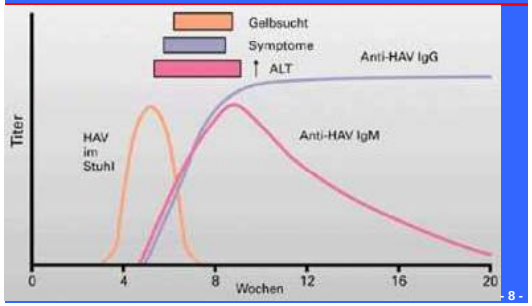
- 6 -

Hepatitis A: Diagnostische Marker

Marker	Definition	Bedeutung
Anti-HAV (total)	Antikörper gegen HAV (IgG + IgM)	Durchseuchungsmarker => Immunität
Anti-HAV-IgM	Antikörper gegen HAV (IgM)	frische Infektion
HAV-RNA (Stuhl)	RNA des HAV	direkter Virusmarker, beweist akute Infektion
HA-Ag (Stuhl)	HAV-Antigen (Antigen der Virusoberfläche)	Infektiositätsmarker

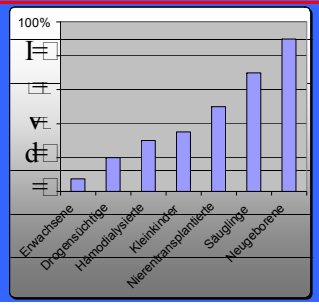
- 7 -

Hepatitis A: serologischer Verlauf



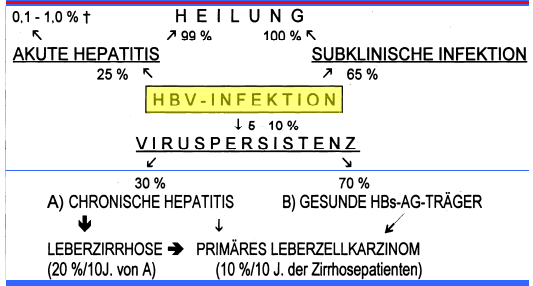
- 8 -

Hepatitis B: Viruspersistenz (Träger)



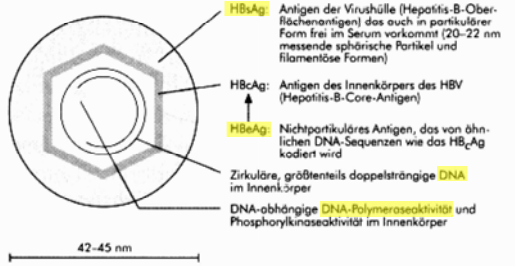
- 9 -

Hepatitis B: Verlaufsmöglichkeiten



- 10 -

Hepatitis B: Schematischer Aufbau

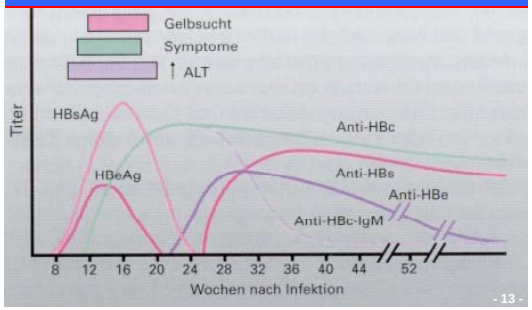


- 11 -

Marker HBV	Definition	Bedeutung
HBV-DNA	Virus-DNA	direkter Virusnachweis
HBsAg	Oberflächenprotein	akute/chronische Infektion, frühester Marker, Infektiösität
HBeAg	ins Blut sezerniertes Virusprotein (teilweise identisch mit HBcAg)	Infektionsmarker: hohe Infektiösität
Anti-HBc	Antikörper gegen HBcAg (IgG + IgM)	Durchseuchungsmarker, lebenslang positiv nach HBV-Kontakt (akute/chronische, abgelaufende Hep.-B)
Anti-HBc-IgM	Antikörper gegen HBcAg (IgM)	hohe Titer beweisen akute Hep.-B-Infektion
Anti-HBe	Antikörper gegen HBeAg	löst HBeAg ab; spricht für geringere/fehlende Infektiösität
Anti-HBs	Antikörper gegen HBsAg	abgelaufende Hep.-B (in Verbindung mir Anti-HBc); Immunität (einziger Antikörper nach Hepatitis-B-Impfung)

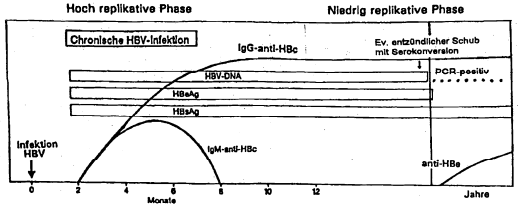
- 12 -

Hepatitis B akut: serologischer Verlauf



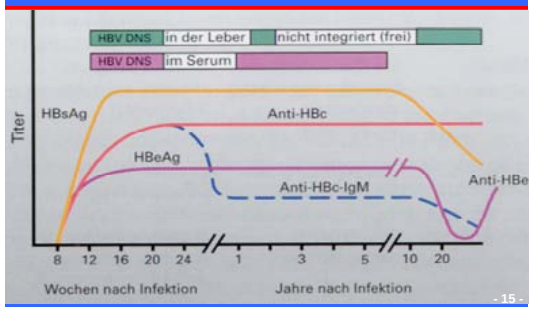
- 13 -

Hepatitis B: Verlaufsphasen



- 14 -

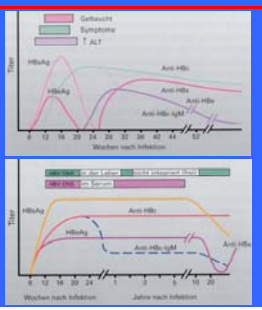
Hepatitis B chronisch: serologischer Verlauf



- 15 -

Hepatitis B chronisch: Befundkonstellation

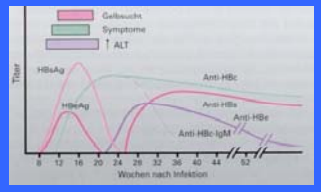
Hepatitis B	Resultat
HBV-DNA	+
HBsAg	+
HBeAg	+ (-)
Anti-HBs	-
Anti-HBe	- (+)
Anti-HBc	+
Anti-HBc IgM	- (+ bei Reaktivierung)



- 16 -

Hepatitis B ausgeheilt: Befundkonstellation

Analyse	Referenzbereich	47501 2085	56475 0716	56475 0228
Hepatitis B				
HBsAg		neg.		neg.
Anti-HBs		pos. ①		pos. ①
Anti-HBc		pos.		pos.



- 17 -

Hepatitis B Impfung: Befundkonstellation

Analyse	Referenzbereich	56313 0149	56361 0474
Hepatitis A			
Anti-HAV			neg.
Anti-HAV IgM		neg.	neg.
Hepatitis B			
HBsAg		neg.	neg.
AHBs-Titer	IU/l	152.3 ①	119.5 ①
Anti-HBs		pos.	pos.
Anti-HBc		neg.	neg.

- 18 -

Hepatitis D

Hepatitis Delta-Virus (HDV)

- inkomplettes (nacktes) Virus (Viroid), benötigt für Replikation Hülle des HBV (HBsAg), 3 Genotypen

Hepatitis D Virus (HDV)	korrespondierende Antikörper
Hülle: HBsAg (Leih-Ag)	anti-HBs
Kern: HDV-Ag	anti-HDV
Kern: HDV-RNA	

→ Simultan-Infektion : HBV + HDV (selten, 2 Transaminasen-Gipfel, Heilung 90%)

→ Super-Infektion : HBsAg-Trägers (häufig, fulminant/chronisch)

- 19 -

Hepatitis C: Epidemiologie

Prävalenz
- 2% Europa/USA (0,4% Deutschland)
- 5% Entwicklungsländer

Erreger
- 6 Genotypen (Deutschland GT 1: 78%, GT2,3: 18%, GT 4: 3%, GT 5,6: 1%) mit > 100 Subtypen
  => Reinfektionen möglich

Ätiologisch verantwortlich
- 70% aller chronischer Hepatitiden
- 60% aller primären Leberzellkarzinome
- 40% aller Zirrhosen
- 30% aller Lebertransplantationen

Infektionsweg
- Typische Risikogruppen (50%; u.a. Piercing, Tätowieren, Akupunktieren)
- 45% unklar!!! (Zahnarzt?!)
- Mutter-Kind (5%, viruslastabhängig; evtl. Kaiserschnitt bzw. Interferontherapie)

- 20 -

Hepatitis C: Diagnostik

Parameter: Anti-HCV
- Serokonversion : erst nach 1 - 6 Monaten (diagnostische Lücke)
- Ergebnis positiv : Kontakt mit HCV
- DD: : akut vs. chronisch nicht möglich
- Falsch positive Ergebnisse : Ausschluss mittels Immunoblot

- 21 -

Hepatitis C: Diagnostik

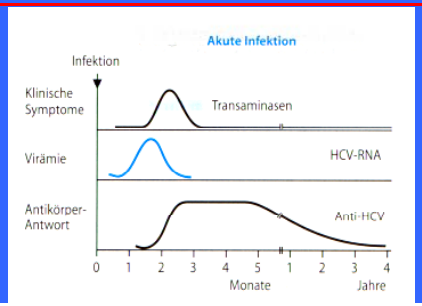
Parameter: HCV-RNA (RT-PCR)

Ergebnis positiv
- Virus-Replikation : bewiesen
- DD : akut vs. chronisch nicht möglich
- Therapie : Viruslast-Bestimmung

Ergebnis negativ
- Akute Infektion : ausgeschlossen
- Chronische Infektion : nicht auszuschließen (analytische Nachweisgrenze unzureichend)

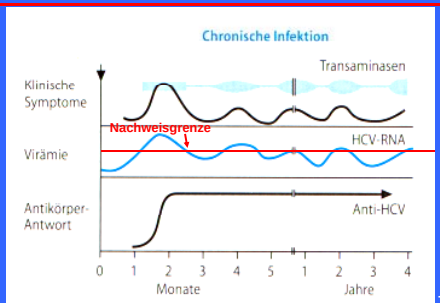
- 22 -

Hepatitis C akut: Verlauf



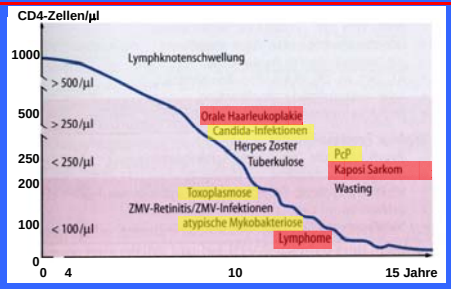
- 23 -

Hepatitis C chronisch: Verlauf



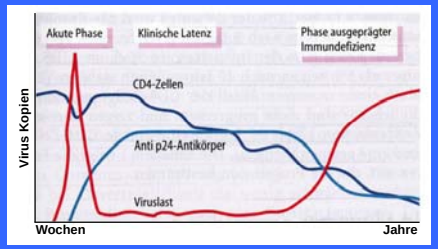
- 24 -

HIV: T-Helferzellen und klinischer Verlauf



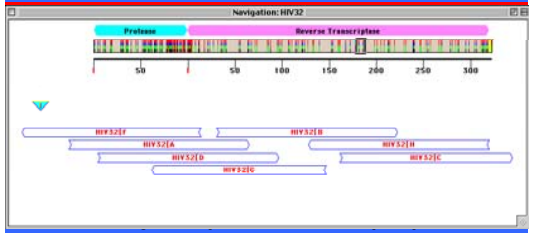
- 25 -

HIV: Verlauf Laborparameter



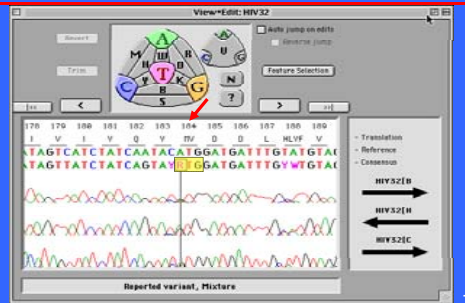
- 26 -

HIV: Subtypisierung durch Sequenzierung



- 27 -

HIV-Sequenzierung: Rohdaten



- 28 -

HIV-Sequenzierung: Medikamenten-Resistogramm

Protease Inhibitoren

PR Resistance Mutations:	L63P, A71V, V77I, I93L
PR Other Mutations:	R41K, K43R, I62V

Reverse Transkriptase Inhibitoren

Drug Resistance Interpretation

RT Resistance Mutations:	M41L, T69D, K70R, K103N, V108I, M184V
RT Other Mutations:	K43R, I135T, D177E, I178M, G196E, G207GR, R211AG, F214L, L228R, E248Q, A272P, H281R, T286A, E297K, A304E

- 29 -

HIV-Sequenzierung: Punktebewertung Resistenzausprägung

Protease Inhibitoren | **Reverse Transkriptase Inhibitoren**

Mutation Scoring

	APV	IDV	NFV	RTV	SQV	LPV
L63P	2	2	2	2	2	2
A71V	4	4	4	4	4	3
V77I	1	1	1	1	1	1
I93L	1	1	1	1	1	1
Total	8	8	8	8	8	7

	AZT	DDI	DDC	D4T	ABC	3TC	TDF	EFV	DLV	NVP
M41L	15	5	5	12	10	0	5			
T69D	5	20	50	12	5	5	5			
K70R	20	0	0	0	0	0	5			
K103N								60	60	60
V108I								10	10	10
M184V	-15	20	20	-8	20	60	-8			
Total:	25	45	75	16	35	65	7	70	70	70

- 30 -

Viruslast am 02.03.2006: 5.993 Kopien/ml

Protease Inhibitors (PI)	**Drug Resistance Interpretation: (+) potential low level, + low, ++ intermediate, +++ high)**
Atazanavir (ATV)	-
Indinavir (IDV)	-
Lopinavir (LPV)	-
Nelfinavir (NFV)	-
Ritonavir (RTV)	-
Saquinavir (SQV)	-
Tipranavir (TPV)	-
Fosamprenavu (fAPV)	-
Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTI)	
Lamivudin (3TC)	+++
Abacavir (ABC)	+
Zidovudin (AZT)	++
Stavudin (D4T)	+
Didanosin (DDI)	+
Emtricitabin (FTC)	+++
Tenofovir (TDF)	(+)
Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTI)	
Delaviridin (DLV)	+
Efavirenz (EFV)	+
Nevirapin (NVP)	+

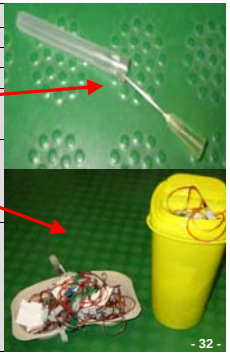
- 31 -

Infektionsrisiko bei Nadelstichverletzung	
Hepatitis B	30%
Hepatitis C	3%
HIV	0,3%

Häufigste Ursachen:
- Recapping
- Desorganisation

Modulatoren:
- Virus-Konzentration
- Verletzungumfang (Kanüle/Nadel)
- Immunität (Impfung)
- Genetische Disposition

Procedere:
- Blutung forcieren - NICHT STILLEN!!!
- Desinfektion (?-3 Min, mehrfach)
- Durchgangsarzt (D-Arzt Verfahren), HIV-Ambulanz
- Testung des Verletzten (Ausgangsbefund, 1, 3, 6, 12 Monate)
- Testung des Patienten (Risikoabschätzung)
- Postexpositionelle Prophylaxe (spätestens nach 1-2 Std. für 2-4 Wochen; starke Nebenwirkungen => Compliance?!)



- 32 -

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik
Vorlesung: Leber- und Pankreasdiagnostik

Dr. med. Michael Erren

Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Strasse 33
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-47233
Fax: 0251 83-47225
zlabor-lehre.uni-muenster.de
erren@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

Klinik von Lebererkrankungen

- Müdigkeit (häufigstes Symptom), Leistungsminderung, Reizbarkeit, Inappetenz, Oberbauchbeschwerden
- Leber vergrößert, druckschmerzhaft, konsistenzvermehrt
- Milz vergrößert (30%), ev. Leuko-/Thrombozytopenie (Hypersplenismus)
- ev. Arthralgien, Exantheme

Untersuchungsgang bei Lebererkrankungen

Anamnese
- Familien- und Eigenanamnese (Lebererkrankungen?)
- Bluttransfusionen
- Auslandsaufenthalte
- Noxen: Alkohol, Medikamente, Gifte (Umwelt, Arbeits- und Hobbybereich)

Inspektion:
- Lacklippen und -Zunge
- Palmar- und Plantarerythem, Dupuytren' Kontraktur, Weißnägel
- Gefäßspinnen (Spider naevi)
- Ikterus, Juckreiz, Kratzspuren
- Aszites, Caput medusae
- Foetor hepaticus
- Frauen: Regelstörungen, sekundäre Amenorrhoe
- Männer: Hypotrichose, Gynäkomastie, Hodenatrophie

Palpation, Sono, etc.

Laborparameter: ...

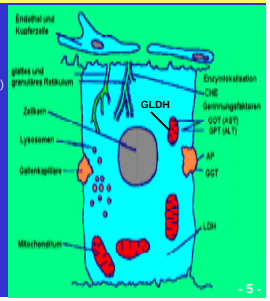
Laborparameter

- Zellschädigung: GPT (ALT), GOT (AST), GLDH
- Synthesemarker: PCHE, Albumin/Präalbumin, Gerinnungsfaktoren (Protrombinkomplex, Faktor V)
- Cholestasemarker: Bilirubin, AP (Isoenzyme), γ-GT, (LAP, 5-Nukleosidase)
- Entgiftung: Ammoniak (hepatische Enzephalopathie)
- Virusserologie: Hepatitis A, B, C, D, (E); EBV, CMV
- Fibrosemarker: Prokollagen III-Peptid, Transforming Growth Factor β (TGF-β), Hyaluronsäure, ...
- Autoimmunmarker: ANA, SMA, LKM, ... [AIH, PBC, PSC, (HCV)]
- Tumormarker: α1-Fetoprotein
- Fe- + Cu-Stoffwechsel: (DD: Hämochromatose vs M. Wilson, Hepatitis vs Cholestase)
- Alkoholmissbrauch: γ-GT, Carboanhydrat-defizientes Transferrin (CDT), Blutbild (makrozytäre Anämie)
- Funktionsteste: Koller-Test, Biotransformation-Teste
- Genuntersuchungen: Hämochromatose, Wilson, Meulengracht, ...

Zelluläre Topograhie

Zellulärer Enzyme
- Zytoplama: GPT, GOT (30%), LDH_5
- Mitochondrien: GOT (70%), GLDH
- Membrangebunden: AP, γ-GT, (LAP)

Sekretionsenzyme
- PCHE
- Gerinnungsfaktoren: Protrombinkomplex, Faktor V
- Albumin, Präalbumin



Leberenzyme

Enzym	Lokalisation		Organspezifisch
	Zytoplasma	Mitochondrien	
GPT (ALT)	+		ja
GOT (AST)	+ (30%)	+ (70%)	nein DD: Herzinfarkt Muskeltrauma
GLDH		+	ja
AP	Membrangebunden (intrahepatisch +, Gallengänge ++)		nein (Knochen, Plazenta)
γ-GT	membrangebunden induzierbar		ja (Niere)
PCHE	+ (RER)		Ja

Basisdiagnostik für Screening auf Lebererkrankungen

GPT, γ-GT, PCHE

negativ

Bei unauffälligem Untersuchungsbefund kann eine Lebererkrankung mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden

positiv

Auch bei unauffälligem Untersuchungsbefund der Leber muss eine weitere Abklärung erfolgen

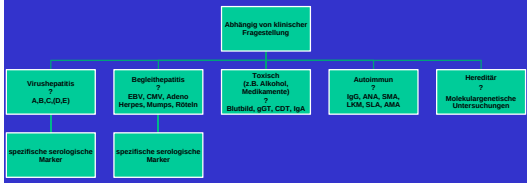
Lebererkrankung Screening Strategie

Parameter	Sensitivität (%)
GPT oder γ-GT	81
GPT, γ-GT und CHE	95
GPT, γ-GT, CHE und AP	97

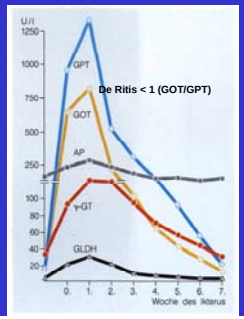
Lebererkrankungen Differentialdiagnostik (Quotientenbildung)

	Quotient	Diagnose
X	GOT/GPT (De Ritis) < 1 > 1	 Entzündungstyp Nekrosetyp
	GPT/GLDH < 10 > 10	 Verschlußikterus Hepatozellulärer Ikterus
	GOT + GPT/GLDH (Schmidt) < 20 30-40 40-50 > 50	 Verschlußikterus Metastasenleber Biliäre Zirrhose, CAH Cholestatische Hepatose Akute Hepatitis Alkoholhepatitis
	LDH5/LDH1,2 (HBDH) > 1,7 < 1,3	 Leberparenchymschaden Hämolyse, Herzinfarkt
X	γ-GT/GOT > 6 < 6	 Alkoholhepatitis Akute Virushepatitis

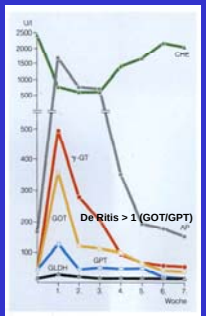
Lebererkrankungen Erweiterte Differentialdiagnostik



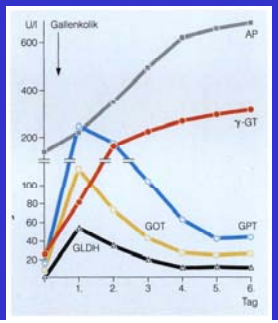
Akute Virushepatitis



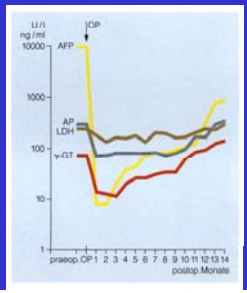
Akute Alkoholhepatitis



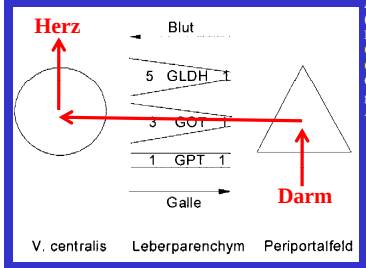
Cholestase



Primäres Leberzell-Carcinom
(Hemihepatoektomie mit Rezidiv)

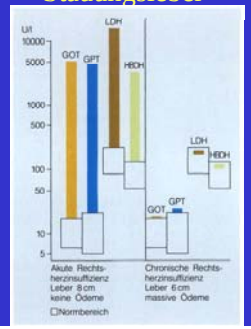


Aufbau des Leber-Acinus



Akute Rechtsherzinsuffizienz (z.B. Herzinfarkt, Schock, Lebervenenthrombose):
GLDH: 200-800 U/l
GOT (AST): 600-1200 U/l
GPT (ALT): 200-600 U/l
g-GT: 100-200 U/l
AP: meist normal

Stauungsleber



Autoimmunhepatitis

	ANA antinuclear antibody	SMA smooth muscle antibody	LKM1 liver kidney microsome antibody	SLA	AMA Anti-mitochondrial antibodies	ASGPr	LP	LC	p-ANCA anti-neutrophile cyto-plasmatic antibody	Anti-HCV
AIH (Autoimmune Hepatitis)	+ Typ1	+ Typ1	+ Typ2	+ Typ1 (3)	(+)	(+)	-	-	+ Typ1	(-)
PBC (Primär biliäre Cholangitis)	+	(+)	-	-	+	(+)	-	?	(+)	-
PSC Primär sklerosierende Cholangitis)	+	-	-	-	-	-	-	?	+	-
Chron. HCV (Virus Hepatitis)	(+)	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	+

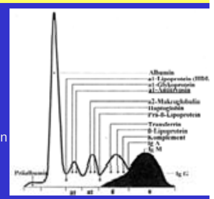
AIH: Autoimmune Hepatitis (Steroide, Azathioprin)
PBC: Primär biliäre Cholangitis (keine immunsuppressive Therapie, Ursodesoxycholsäure)
PSC: Primär sklerosierende Cholangitis (keine immunsuppressive Therapie, Ursodesoxycholsäure)
Chron. HCV: Chronische Hepatitis C

Schweregrad Leberzirrhose (Child A, B, C)

	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
Enzephalopathie	keine	leichtes Koma	Koma
Aszites	keiner	leicht	ausgeprägt
Serum Albumin (g/dl)	> 3,5	2,8 - 3,5	< 2,8
Serum Bilirubin (mg/dl)	< 2	2 - 3	> 3
Serum Bilirubin bei PBC (mg/dl)	1 - 4	4 - 10	> 10
PTZ (%)	> 70	40 - 70	< 40

Präalbumin

- Bildung ausschließlich durch Leber
- Rasche Degradation im Serum
- Bei Synthesestörung daher rascher Abfall
- Empfindlicher Indikator:
  - Störungen der Eiweißsynthese bei Leberschaden
  - Katabolimus
  - Mangelernährung



Fibrosemarker

- Prokollagen III-Peptid
- Transforming Growth Factor (TGFb)
- Hyaluronsäure
- Weitere in Evaluation

Ammoniak

(> 100 µg/dl)

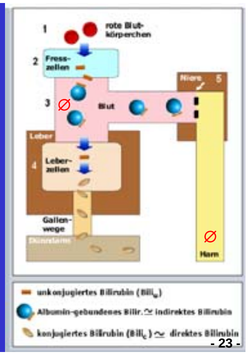
- Verlaufskontrolle hepatische Enzephalopathie
- Leberausfallkoma

Ultima ratio:
- extrakorporale Detoxikation
- Lebertransplantation (LTX)
  - Teil-LTX
  - Spitting-LTX
  - auxilliäre partielle orthotope-LTX
  - orthotope-LTX

Gelbsucht

- Ikterus: Haut/Skleren (Bilirubin i.S. > 2 mg/dl)
- Pseudoikterus: Farbstoffablagerungen
- Cholestase:
  Gallesäurestauung mit Ikterus, Pruritus
  und Erhöhung Cholestaseenzyme (AP, γ-GT)

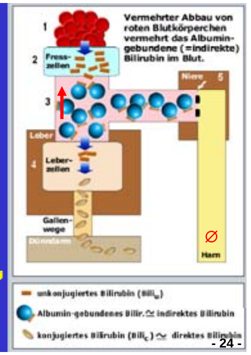
Bilirubin Metabolimus (gesunder Proband)



Prähepatisch (Hämolyse)

Hämolyse-Zeichen:

[illegible]



Bilirubin im Serum

Ikterus	Pathophysiologie	Gesamt Bilirubin	Indirektes Bilirubin	Direktes Bilirubin	Erkrankung
Prähepatisch	Glukuronidierungs-Kapazität der Leber unzureichend	↑	↑↑	∅	Hämolytische Anämie (Haptoglobin, Retikulozyten)
Hepatisch	Bilirubinverwertungsstörung der Leber	↑	↑	↑	Hepatitis (GPT, GOT)
Posthepatisch	Abflußbehinderung des direkten Bilirubins	↑	∅	↑↑	Cholestase (gGT, AP)

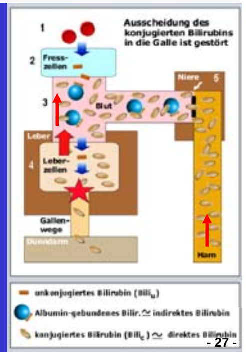
Bilirubin und Urobilinogen im Urin

Ikterus	Bilirubin	Urobilinogen
Prähepatisch	∅	↑↑
Hepatisch	↑	↑
Posthepatisch	↑↑	∅

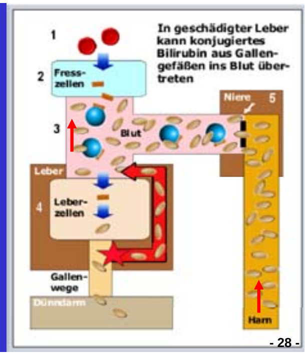
Intrahepatisch

unkonjugiert = indirekt (Glukuronyltransferase):
- M. Meulengracht
  (5%; Fasten, Schlafentzug, Nikotonsäuretest)
- Crigler-Najar Syndrom

konjugiert = direkt (Ausscheidung):
- Dubin-Johnson-Syndrom (Protoporphyrin I)
- Rotor-Syndrom (Koproporphrin III)



Intrahepatisch (z.B. Hepatitis)



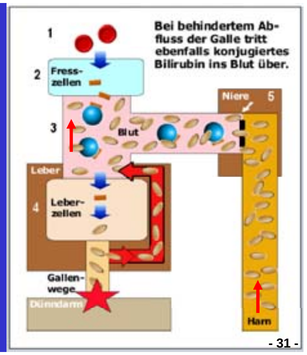
Bilirubin im Serum

Ikterus	Pathophysiologie	Gesamt Bilirubin	Indirektes Bilirubin	Direktes Bilirubin	Erkrankung
Prähepatisch	Glukuronidierungs-Kapazität der Leber unzureichend	↑	↑↑	∅	Hämolytische Anämie (Haptoglobin, Retikulozyten)
Hepatisch	Bilirubinverwertungsstörung der Leber	↑	↑	↑	Hepatitis (GPT, GOT)
Posthepatisch	Abflußbehinderung des direkten Bilirubins	↑	∅	↑↑	Cholestase (gGT, AP)

Bilirubin und Urobilinogen im Urin

Ikterus	Bilirubin	Urobilinogen
Prähepatisch	∅	↑↑
Hepatisch	↑	↑
Posthepatisch	↑↑	∅

Posthepatisch (Cholestase)



Pankreasdiagnostik

- Ischämie/Nekrose: Lipase (akut: > 3x, chronisch: häufig nicht erhöht)
  Amylase (auch Urin), Pankreas-Isoamylase,
  cave: Makroamylase (Serum vs Urin), hereditäre Hyperamylasämie, Niereninsuffizienz
- Endzündung/Nekrose: CRP, Leukozyten, LDH
- Cholestase: γ GT, AP, direktes Bilirubin (Obstruktion)
- Ätiologie: Triglceride, Calcium (Ätiologie, Prognose), Parathormon
- Komplikationen: Glucose, Insulin, C-Peptid
- Tumormarker: CA 19-9

Funktionsteste:

Direkt:
- (Sekretin-Pankreozymin-Test; zu aufwendig)

Indirekt:
- (Flurescein-Dilaurat-Test; Problem: Maldigestion, Leber- und Niereninsuffizienz)
- Chymotrypsin (Präperate absetzen) oder Elastase-1 im Stuhl

Klinische Chemie & Laboratoriumsdiagnostik

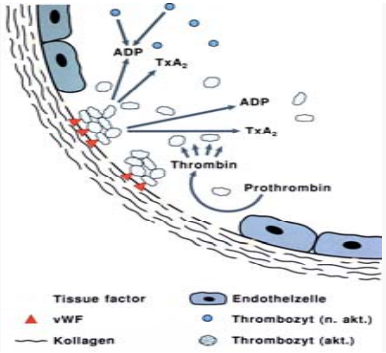
Vorlesung: Hämostaseologie

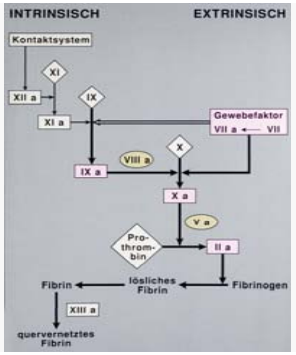
Prof. Dr. med. Rolf Mesters

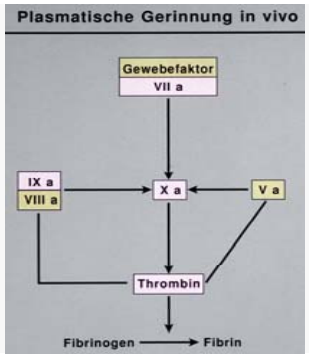
Medizinische Klinik und Poliklinik
– Innere Medizin A –
Hämatologie, Onkologie,
Hämostaseologie, Pneumologie
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Strasse 33
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-47594
Fax: 0251 83-49667
http://medweb.uni-muenster.de/institute/meda
mesters@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

Hämorrhagische Diathese







Hämorrhagische Diathese

Symptome und Befunde

- Petechien
- Hauthämatome/-Muskelhämatome
- Gelenkblutung
- Epistaxis
- Blutungen nach Verletzung/OP
- Menorrhagien/-Metrorraghien
- Familienanamnese
- Medikamentenanamnese

Hämorrhagische Diathese

Leitsymptome

- petechiale / purpuriforme Blutungen
- Gelenk-/Weichteilblutung
  großflächige Haut-/Muskelhämatome
- kombinierter Blutungstyp

Hämorrhagische Diathese

Differentialdiagnose

- **Thrombozytopenien** / Thrombozytopathien
- **Koagulopathien** inkl. Hyperfibrinolyse
- **Vasopathien**

Hämorrhagische Diathese

Labor-Basisdiagnostik

- **Thrombozytenzahl** / - Morphologie
- **Thromboplastinzeit n. Quick**
- **Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT)**

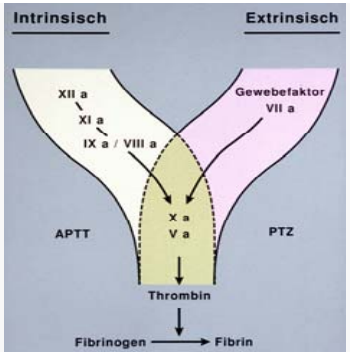
Thrombozytäre Gerinnungsstörungen

Thrombozytopenien

Ursachen

- **Bildungsstörungen**
  - **verminderte Megakaryozytopoese**
  - **ineffektive Thrombozytopoese**
- **Erhöhter Verbrauch**
  - **immunologische Mechanismen**
  - **nicht-immunologische Mechanismen**
- **Sequestration bei Splenomegalie**

Koagulopathien

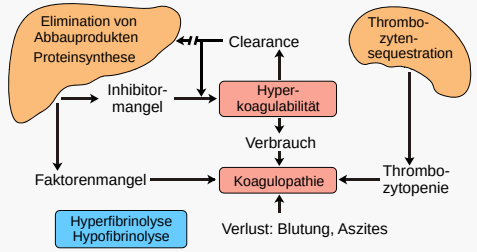


Erworbene hämorrhagische Diathesen

Ursachen

- **Lebersynthesestörungen**
- **Vitamin K-Mangel/-Antagonisten**
- **DIC / Hyperfibrinolyse**
- **Verlustkoagulopathie**
- **Medikamente**
- **Inhibitoren**

Leberzirrhose



Hämotherapie bei Leberzirrhose

Strenge Indikationsstellung !
(Blutungen, Operationen, Punktionen)

Gefrorenes Frischplasma
↓
Antithrombin III + PPSB
↓
± Thrombozyten ± Fibrinogen / F XIII

- **Aprotinin:** dominante Hyperfibrinolyse (Transplantation)
- Fragl. Stellenwert: **DDAVP** (ineffektiv bei akuter GI-Blutung)

DIC - Pathophysiologie

Grunderkrankung (z.B. Sepsis)

↓

Gerinnungsaktivierung (z.B. Tissue-Factor) → Verbrauch von Thrombozyten, Gerinnungsfaktoren/-Inhibitoren

↓

Intravasale Mikrothrombosierung → Sek. Fibrinolyse

↓ ↓

Multiorgan Dysfunktion ← Hämorrhagische Diathese

Disseminierte intravasale Gerinnung

Diagnose

1. Typische Grunderkrankung

2. Progrediente Systemaktivierung:

- **Thrombingeneration / Fibrinbildung:** FM - D-Dimere - (F 1+2 / TAT)
- **Inhibitorverbrauch:** Antithrombin III, Protein C

3.Globale Gerinnungsparameter:

- **Thrombozyten, Quick, APTT, Fibrinogen**

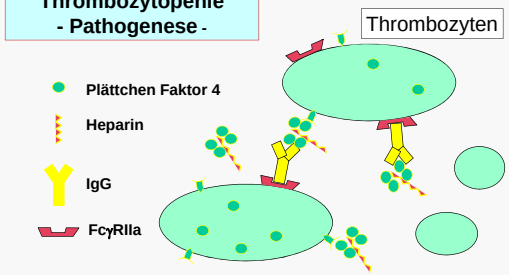
→ **Verbrauchskoagulopathie**

Anamnese

J.L., 41 Jahre

- **Cholezystektomie bei Cholezystolithiasis**
- **9. postoperativer Tag: livide Schwellung des linken Arms**
- **innerhalb weniger Stunden massivste Schmerzen, Marmorierung u. Blasenbildung**
- **dopplersonographisch fehlender venöser u. arterieller Fluß**

Heparin-induzierte Thrombozytopenie - Pathogenese -



Heparin-induzierte Thrombozytopenie

	Nicht-immunologisch	Immunologisch
Beginn	Tag 1- 2	Tag 5 -14 (Reexposition?; nach Absetzen?)
Häufigkeit	5 - 10%	1-3%
Thrombozytopenie	>100,000/µl	<100,000/µl oder Abfall >50% (Mittelwert: ≈ 50,000/µl)
Klinische Präsentation	Asymptomatisch	Thromboembolien
Therapie	Ø	Danaparoid / Lepirudin

Vaskuläre hämorrhagische Diathesen

Ursachen

- **Angeboren**
  - **M. Osler**
  - **Bindegewebserkrankungen**
- **Erworben**
  - **Vaskulär-allergische Purpura**
  - **Purpura senilis**
  - **Amyloidose**
  - **M. Cushing, Kortikosteroide**
  - **Vitamin C-Mangel (Skorbut)**

Hämorrhagische Diathese

Labor-Spezialdiagnostik

- **Blutungszeit**
- **Fibrinogen / Thrombinzeit**
- **Ristocetin-Kofaktor Akt,** vWF-Ag, -Multimere
- **Faktor XIII**
- **alpha-2 Antiplasmin**
- **Thrombozytenaggregometrie**
- **Einzelfaktoren-Analyse**

Klinische Chemie & Laboratoriumsdiagnostik

Vorlesung: Kardiale Diagnostik

Dr. med. Michael Erren

Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Strasse 33
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-47233
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.uni-muenster.de
erren@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

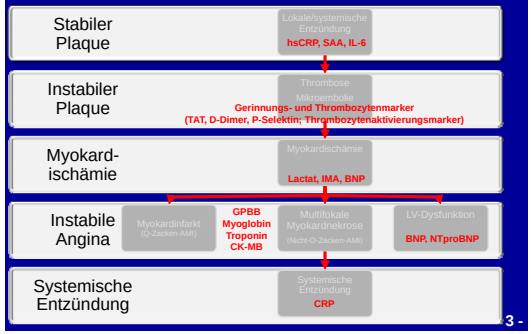
Kardiovaskuläre Risikofaktoren

Nicht modifizierbar
- Positive Familienanamnese
- Positive Eigenanamnese
- Geschlecht (männlich)
- Alter (M > 45 J., F > 55 J.)

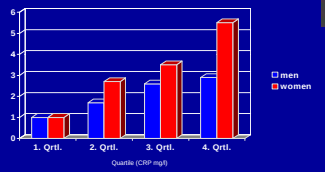
Modifizierbar
- Rauchen
- Ernährung / Übergewicht
- Exzessiver Alkoholmißbrauch
- Körperliche Inaktivität

- Hypertonie
- Diabetes mellitus
- Dyslipidämien / Hyperlipidämien
  - → hohes LDL-Cholesterin
  - → niedriges HDL-Cholesterin
  - → hohe Triglyceride
  - → hohes Lipoprotein(a)
- Hyperhomocysteinämie
- Entzündung

Pathophysiologie des akuten Koronarsyndroms (ACS): Zuordnung geeigneter Laboruntersuchungen

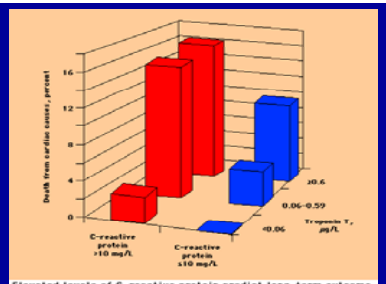


Herzinfarkt: CRP und relatives Risiko



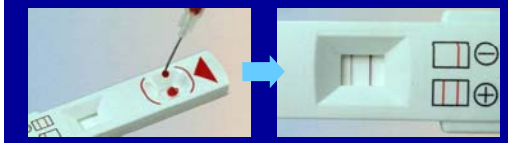
women	<1.5	1.5-3.7	3.8-7.3	>7.3
men	<0.6	0.6-1.1	1.2-2.1	>2.1

Women's Health Study (Ridker PM, NEJM, 1997)
Physicians' Health Study (Ridker PM, Circulation, 1998)



Elevated levels of C-reactive protein predict long-term outcome in unstable angina In the FRISC trial of 917 patients with unstable angina, elevated levels of C-reactive protein, obtained within 24 hours, are associated with an increased incidence of death from cardiac causes at two years; its effects are additive to maximal troponin T levels. (Data from Lindahl, B, Toss, H, Siegbahn, A, et al, N Engl J Med 2000; 343:1139.)

Point-of-Care Testing von Herzmarkern



Ist schneller besser?

Nekrose: Troponin, Myoglobin, CK-MB

Entzündung: CRP

Herzinsuffizienz: BNP

Aktuelle AMI-Kriterien der ESC / ACC (2000)

[ESC: European Society of Cardiology; ACC: American College of Cardiology]

Wesentlicher Unterschied: Neuformulierung des Laborteils

Typischer Anstieg und Abfall biochemischer Herzmarker

(cTnI oder cTnT, CK-MB)

Gleichzeitig eines der folgenden zwei Kriterien:
- → Ischämie-Symptome
- → EKG-Veränderungen
  (pathologische Q-Wellen/ST-Hebung oder -Senkung)
  bzw. pathologischer Coro-Befund

DD Myokardinfarkt:
Myokarditis, Lungenembolie, toxische oder traumatische Schädigung

Der ideale Herzmarker

Hohe Sensitivität
- Hohe Konzentration im Myokard
- Geringe Molekülgröße
- Schnelle Freisetzung (Frühdiagnostik)
- Lange Halbwertzeit (Spätdiagnostik)

Hohe Spezifität
- Nicht in anderem Gewebe vorhanden
- Nicht im Blut Gesunder vorhanden

Klinische Bewertung
- Freisetzung proportional zum Schaden
- Prognostische Aussagen
- Therapeutische Konsequenzen

Analytische Bewertung
- Einfache und schnelle Methoden
- Gute Präzision und Richtigkeit
- Kostengünstig

Biochemische Herzmarker

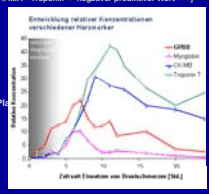
Ja:
- CK und CK-MB (Creatinkinase und Creatinkinase vom Herzmuskeltyp)
- Troponin I oder Troponin T
- Myoglobin

Nein:
- ~~LDH und α-HBDH~~ (Lactat-Dehydrogenase und Lactat-Dehydrogenase Typ I)
- ~~GOT~~ (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)

Biochemische Herzmarker

Neue Parameter:
- Nekrose: H-FABP (Heart Fatty Acid Binding Protein) [Myoglobin / H-FABP :< 10 => Herz; > 20 => Skelett]
- Ischämie: GPBB (Glykogenphosphorylase Isoenzym BB)
  [Ischämie (nicht andere Genese) => Hypoxie + Hypoglykämie => Glykogenolyse => Freisetzung (aktiv!)]
- Ischämie: IMA (Ischämie-modifiziertes Albumin) [FDA: IMA + Troponin => negativer prediktiver Wert +++]

Akzessorische Parameter:
- Akute Phase Reaktion: CRP, Interleukin 6
- Gerinnung:
  Prothrombinfragment F1+2, Thrombin-Antithrombin III-Komplex, Pl
- Metabolisch: Lactat, Azidose
- Rechtsherz-Insuffizienz: GLDH, GOT, GPT, PCHE
- Niereninsuffizienz: Kreatinin, Harnstoff



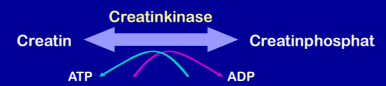
Charakteristika von Laborparametern für die Myokardinfarkt-Diagnostik

Laborparameter	MG (kD)	Anstieg (Stunden)	Normalisierung (Tage)
GPBB	194 (aktive Ausscheidung)	1-4	1-2
H-FABP	15	2-5	1
Myoglobin	18	2-6	1
Troponin I	24	3-8	7-10
Troponin T	39	3-8	7-14
CK	86	3-12	3-4
CK-MB	86	3-12	2-3
GOT (AST)	93	6-12	3-4
LDH-1 (HBDH)	135	6-12	7-14

Creatinkinase (CK)

Eigenschaften und Funktion

Intrazellulär lokalisiertes Enzym des Energiestoffwechsels:



Nichtkardiale Ursachen hoher CK-Werte

- Intramuskuläre Injektionen
- Reanimation, Elektrokardioversion
- Trauma
- Chirurgische Eingriffe
- Rhabdomyolyse
- Dermatomyositis, Polymyositis
- Muskeldystrophie Duchenne
- Starke körperliche Belastung (Sport!)

„Immer dann, wenn Muskelgewebe zerstört wird …“

Creatinkinase (CK)

Dimere aus zwei Proteinen M und / oder B

Skelettmuskel	➡	CK-MM
Herzmuskel	➡	CK-MB
Gehirn, Darm, Uterus	➡	CK-BB
Mitochondrien	➡	CK-MiMi

CK bei Herzinfarkt

Gesamt-CK: > 100 IU/L

CK-MB: 6 - 20% der Gesamt-CK

(innerhalb von 6 bis 36 Stunden nach infarktverdächtigem Ereignis)

„Falsch hohe“ CK-MB-Werte

Makro-CK

Typ I
Immunkomplexe (aus CK-BB und IgG, in bis zu 1% der Fälle)

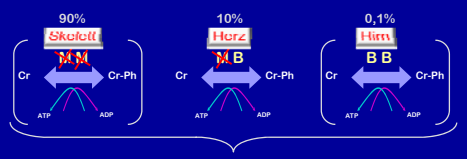
Typ II
Aggregate (aus CK-MiMi)

CK-BB

Tumoren, neurologische Erkrankungen

Bestimmung der CK-MB

Hemmung der M-Untereinheit



Ergebnis x 2:
CK-Aktivität

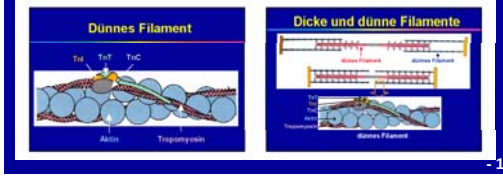
Gewebeverteilung der CK und ihrer Isoenzyme

Gewebe	CK-Aktivität (U/g Feuchtgewicht)	CKMM (%)	CKMB (%)	CKBB (%)
Skelettmuskel	2500–3000			
schnelle (weißen) Fasern		97–99	1–3	< 0,1
langsame (roten) Fasern		95	5	
Myokard	500–700			
normal		95	5	
pathologisch verändert		70–80	20–30	
Gehirn	200–300			100
Gastrointestinaltrakt	120–150			100
Blase	85			100
Uterus				
ohne Schwangerschaft	165			100
während Schwangerschaft	245		6	94
Plazenta	250	19	1	80
Prostata	85			100
Lunge	15	0–20		80–100

Troponine

5% des Gesamtproteins im quergestreiften Muskel
MG des TnICT-Komplexes: 78 kDa

Untereinheiten: Troponin T (30 kDa)
Troponin I (30 kDa)
Troponin C (18 kDa) nicht herzspezifisch!



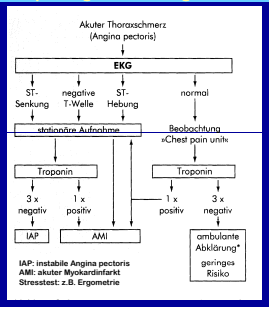
	Troponin T	Troponin I
Herzspezifische Isoform	ja	ja !!!
Frei im Zytoplasma	6-8% (2 Gipfel)	3-4% (1 Gipfel)
Diagnostisches Fenster	14-21 Tage	9-12 Tage
Komplexe im Serum	(-)	C/I und C/I/T
Proteolyse	(-)	amino- und carboxyterminal
Sonstige Formen	(-)	oxidiert, reduziert, phosphoryliert

Troponin C: keine herzspezifische Isoform!

Testsystem	99%-Perzentile	10% Impräzision (Grenzwert)
Abbott AxSYM (cTnI)	0,50	1,22
Bayer ACS:180	0,10	0,37
Bayer Centaur	0,15	0,33
Beckmann Access	0,04	0,06
Biomerieux Vidas	0,10	0,36
Byk Sangtec Liaison	0,03	0,07
Dade Behring Dimension	0,07	0,26
Dade Behring Stratus CS	0,05	0,10
DPC Immunlite	0,20	0,32
Ortho Vitros ECi	0,10	0,44
Tosoh AIA 21	0,06	0,09
Roche Elecsys/E170 (cTnT)	0,01	0,04

* Gemäß IFCC C-SMCD 2003 /[34]/; Angaben in µg/l

Akutes Koronarsyndrom (ACS)
Troponin-gestützte Diagnose-Strategie



Myoglobin

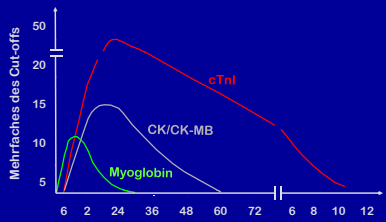
Eigenschaften
Intrazellulärer Transport von O_2 im Muskelgewebe

Pathophysiologie
Herzinfarkt: Freisetzung aus geschädigten Herzmuskelzellen

Vorteile als Herzmarker
Hohe Sensitivität, früher Anstieg, schneller Abfall
[hohe Zeitauflösung: Reinfarkt, Thrombolysetherapie, PCI]

Nachteile
Niedrige Spezifität, Verfügbarkeit

Verlauf ohne Thrombolyse

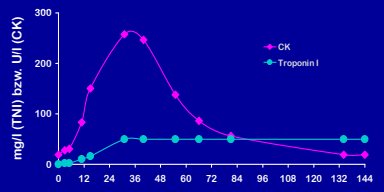


Zeit nach Einsetzen der Symptomatik

Diagnostische Sensitivität bei V.a. Myokardinfarkt

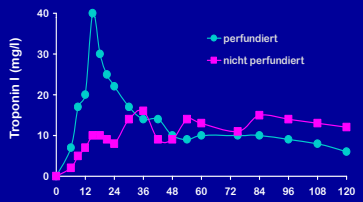
	Stunden nach Schmerzbeginn 0 - 2	3 - 4	5 - 6
ST-Str.-Senkung	-	-	41%
Myoglobin	35%	80%	95%
CK-MB Masse	30%	70%	90%
CK-MB Aktivität	10%	25%	55%
Troponin I od. T	25%	60%	80%

Verlauf ohne Thrombolyse



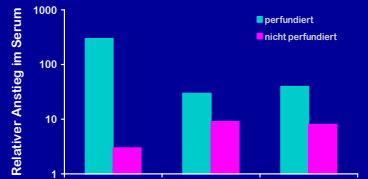
Zeit nach Beginn der Schmerzsymptomatik (Stunden)

Verlauf bei Thrombolyse



Zeit nach Beginn der Schmerzsymptomatik (Stunden)

Herzinfarkt-Marker nach Thrombolyse



90 Minuten nach Thrombolyse

Herzinsuffizienz I

- Struktureller Umbau (Remodeling) + neuroendokrinologische Aktivierung (Sympathikus, Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Vasopressin, Endothelin, Zytokine)
- Bewertung: akut = positiv, chronisch = negativ
- Endogene Antagonisten: kardiales natriuretisches Peptidsystem (ANP, BNP, CNP) + NO = Vasodilatation + Diurese
- Duales System: ANP + BNP
  - ANP (Vorhöfe, Dehnung, Speicherung, akut)
  - BNP (Kammer, Spannung, keine Speicherung, chronisch)
- Sekretionsmuster :
  Frühstadium: Vorhofüberdehnung ANP
  Spätstadium: Kammerhypertrophie BNP
- BNP:
  - negativ: Ausschlußdiagnostik (hoher prediktiver Wert)
  - positiv => kardiologische Abklärung
- Indikationen:
  Herzinsuffizienz: Diagnose, Risikostratefizierung, Verlaufs- + Therapiekontrolle
  AMI + ACS: Risikostratefizierung

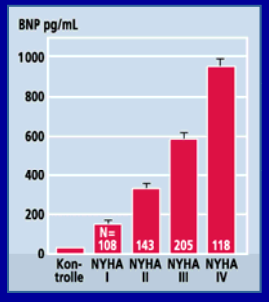
Herzinsuffizienz II

- BNP / ANP: > 1
- BNP: proportional NYHA-Stadium (jedoch große Überlappung)
- BNP: < 100 pg/ml Ausschluß
- BNP: 100 - 400, Vielzahl DD
- BNP: > 400 pg/ml HI od. LV-Dysfunktion bei AMI oder ACS (cave Niereninsuffizienz)
- BNP: > 800 pg/ml Hochrisiko
- Therapiekontrolle: => Abnahme; Zielwert unklar (interindividuelle Streuung, Alter)
- Risikostratefizierung: AMI + ACS
- Standardisierte Abnahme nicht nötig: nicht circadian, Körperlage, Aktivität, RT-stabil
- Cave: Nieren-/Leberinsuff., Hypervolämie
- BNP: therapeutisch, HWZ nur 2 Std.
- cGMP:
  - Second Messenger von ANP, BNP, C-Typ-natriuretisches Peptid (Endothel)
  - klinisch nicht mehr bedeutsam

	BNP	NT-proBNP
Molekulargewicht	3,5 kD	8,5 kD
Halbwertszeit	22 min.	120 min.
Clearance	Neutrale Endopeptidase (Spaltung der Ringstruktur)	renal
Altersabhängigkeit	↑	↑↑↑
Korrelation mit GFR	-0,20	-0,60
Hormonelle Aktivität	ja	nein
POCT	verfügbar	in Entwicklung
Anzahl Publikationen	↑↑↑↑	↑

Peetz et al., Laboratory Medicine, 2005

Ausmaß der Herzinsuffizienz und BNP-Konzentration



Klinische Chemie & Laboratoriumsdiagnostik
Vorlesung: Entzündung

Dr. med. Michael Erren

Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-47233
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.uni-muenster.de
erren@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

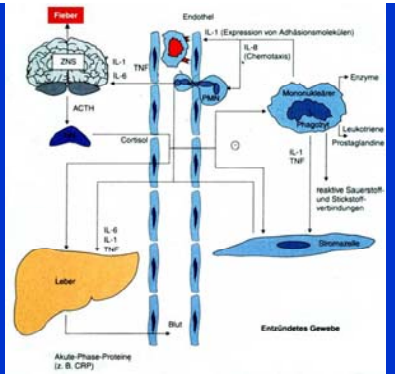
Entzündung

Definition:
Unspezifische Antwort von biologischem Gewebe auf äußeren/inneren Reiz mit der Funktion, den Schädigungsreiz zu neutralisieren/abzubauen/beseitigen und Gewebe zu reparieren.

- Reaktion lokal:
  - Schmerz (Dolor)
  - Rötung (Rubor)
  - Erwärmung (Calor)
  - Schwellung (Tumor)
  - eingeschränkte Funktion (Functio laesa)
- Reaktion systemisch:
  - neurohumoral, metabolisch, immunologisch

Immunsystem

	Antigen-unspezifisch	Antigen-spezifisch
Humoral (lösliche Faktoren)	Zytokine (TNF, IL6) Akute-Phase-Proteine (CRP) Komplementsystem (C3, C4) Gerinnungssystem (Fibrinogen)	Antikörper - IgA - IgE - IgG - IgM
Zellulär	Granulozyten Monozyten/Makrophagen Natürliche Killer-Zellen	T-Lymphozyten B-Lymphozyten



Fieber

Phagozytose
(Bakterien, Fremdstoffe, Zelltrümmer)

↓

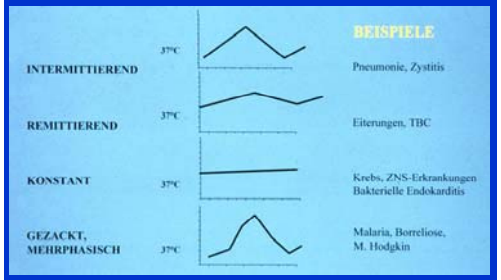
Endogene Pyrogene (Zytokine)
Exogene Pyrogene (LPS, Peptidoglykan)

Granulozyten (akut) → Monozyten (chronisch)

↓

Sollwertverschiebung ZNS

Typische Fieberkurven



Unklare Fieberzustände (> 1 Woche)

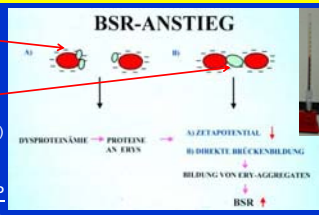
- 40% Infektionen
- 20% Autoimmunerkrankungen
- 20% Neoplasien
- 10% Verschiedene
  Leber- & Darmerkrankungen, MEDIKAMENTE!
- 10% ungeklärt

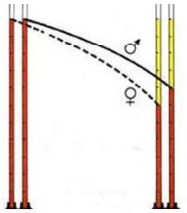
Blutsenkungsreaktion (BSR)

Dysproteinämie
Neutralisation (akut)
- $\alpha_{1/2}$-Proteine

Brückenbildung (chronisch)
- Fibrinogen
- Immunglobuline (IgM)
- Immunkomplexe

Indikation: BSR vs CRP
- Lupus erythematodes
- Polymyalgia rheumatica
- Arteriitis temporalis
- Neoplasien





Ansatz
- 0,4 ml Natrium-Citrat 3,8%
- 1,6 ml Blut
- 20 cm graduierte Glas-/Plastikröhrchen

Fehlerquellen
- Volumen + Mischfehler
- Temperatur (21° vs 27°C)
- Anämie ↑, Antiplogistika ↓

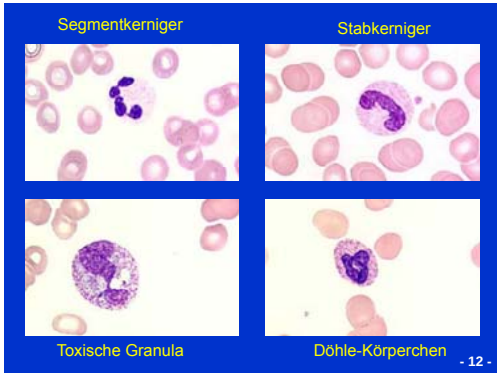
Referenzwerte
- Männer < 15 mm / 1. Std.
- Frauen < 20 mm / 1. Std.
- Kinder niedriger
- Im Alter höher

Leukozytosen
(Granulozytose, Lymphozytose, Monozytose)

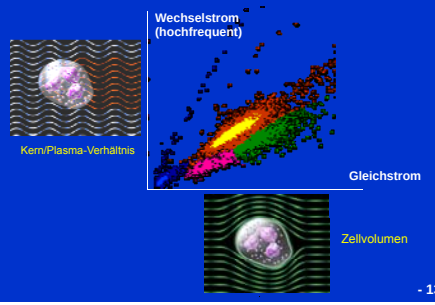
- Infektionen (lokal/systemisch)
- Nekrose (Trauma, OP, Myokard-Infarkt)
- Stoffwechselstörungen
  (Gicht, Urämie, Azidose, Vergiftung)
- Tumoren
- Körperliche Belastung, Schreileukozytose
- Cave: Glucocorticoid-Therapie!

Differential-Blutbild

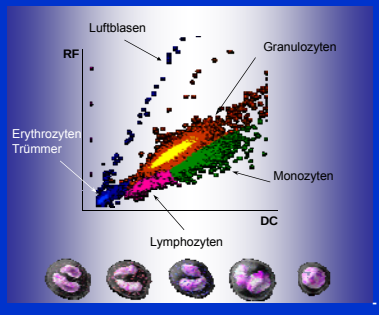
	Bakteriell	Viral	Steril	Allergisch	Chronisch
Neutrophile Granulozyten	(↑↑↑)	(↕)	↑	(↑)	(↑)
Links-verschiebung	↑		(↑)		
Monozyten					↑
Lymphozyten		↑ (↓CMV) CTL, NK			
Eosinophile Granulozyten				↑ Morgenröte der Genesung	



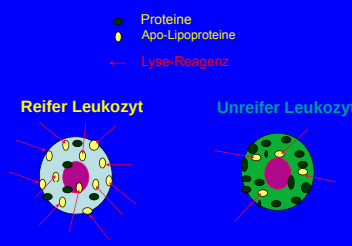
Leukozyten-Differenzierungs-Kanal
(AC/DC Widerstandsmeßprinzip)



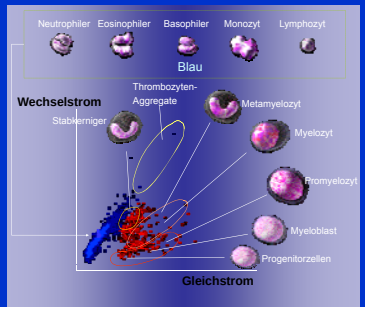
Leukozyten-Differenzierungs-Kanal

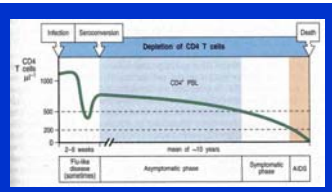


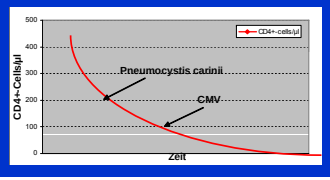
Prinzip der Reagenz-Wirkung im Immature-Myeloid-Information Kanal

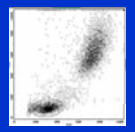


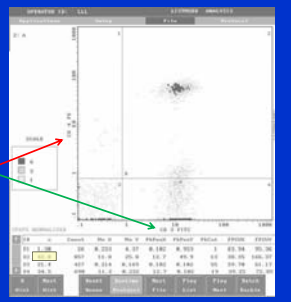
IMI-Kanal
Immature Myeloid Information (IMI)





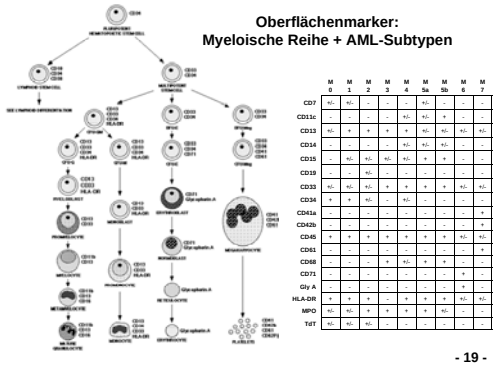






Lymphozyten-Subpopulationen

1. T-Lymphozyten (CD3)
   - T-Helfer (CD4)
   - T-Suppressor (CD8)
2. B-Lymphozyten (CD19)
3. Natürliche Killerzellen (NK)



Oberflächenmarker:
Myeloische Reihe + AML-Subtypen

	M 0	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5a	M 5b	M 6	M 7
CD7	+/-	+/-	-	-	-	+/-	-	-	-
CD13c	-	-	-	-	+/-	+/-	+	-	-
CD13	+/-	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+/-
CD14	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-
CD15	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	-	-
CD19	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
CD33	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+	+/-	+/-
CD34	+	+	+/-	-	+/-	-	-	-	-
CD41a	-	-	-	-	-	-	-	-	+
CD42b	-	-	-	-	-	-	-	-	+
CD45	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-
CD61	-	-	-	-	-	-	-	-	+
CD68	-	-	-	+	+/-	+	+	-	-
CD71	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Gly A	-	-	-	-	-	-	-	+	-
HLA-DR	+	+	+	-	+	+	+	+/-	+/-
MPO	+/-	+/-	+	+	+	+	+/-	-	-
TdT	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-

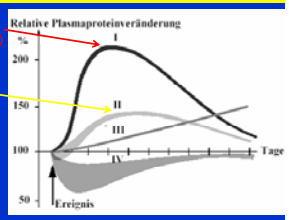
Positive + Negative Akute-Phase-Proteine

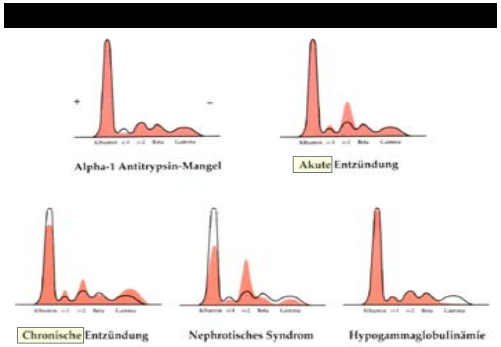
I. Akute-Phase-Proteine
- C-reaktives Protein (CRP)
- Serum-Amyloid A (SAA)

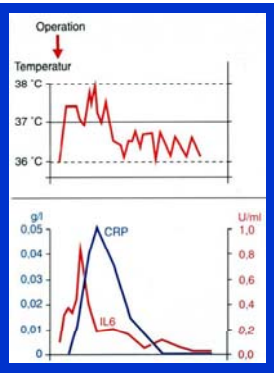
II.
- α_1: α_1-Antitrypsin
- α_2: Haptoglobin, Caeruloplasmin
- β: Fibrinogen

III. Immunglobuline

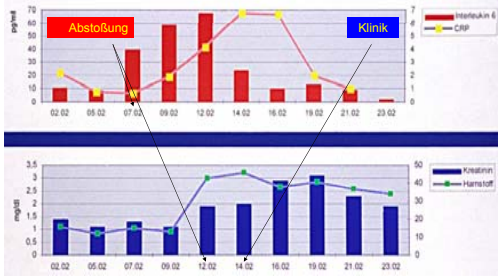
IV. Transportproteine
- Albumin

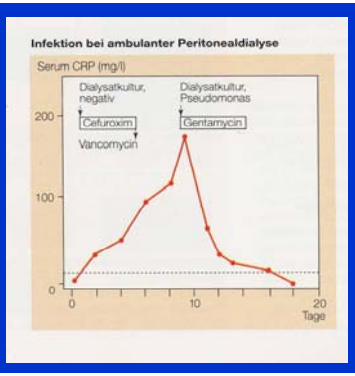


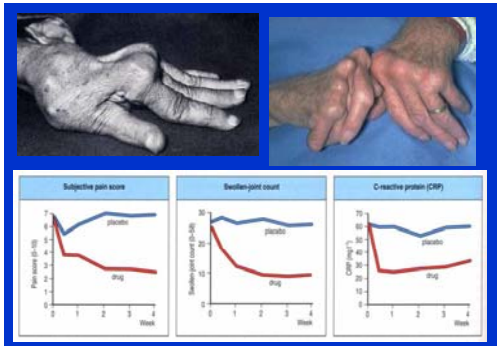




Abstoßung nach Nierentransplantation:
Immunologische Parameter als Frühindikatoren





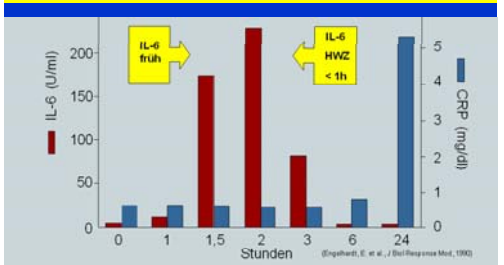


Neonatologie
- Amnion-Infekt-Syndrom (AIS)
  - Klinik:
    Vorzeitiger Blasensprung, fetale + mütterliche Tachykardie, weicher Uterus, Fieber, Leukozytose
  - Entscheidungsgrenze:
    CRP > 20 mg/l
    IL6 > 10 ng/l

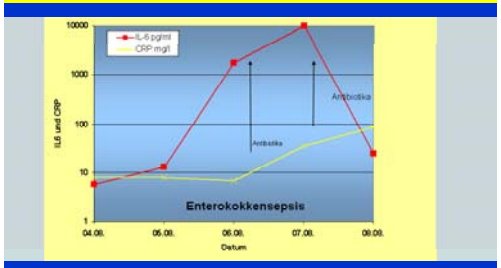
Pädiatrie
- Frühgeborenen-Sepsis
  - Klinik
    Neutropenie + Linksverschiebung, Thrombopenie
    DD: fetale Asphyxie, Mekonium-Aspiration, neonatale Blutung, kardio-vaskulärer Schock
  - Entscheidungsgrenze:

CRP	> 10 mg/l
IL6	> 10 ng/l
TNF-α	> 10 ng/l

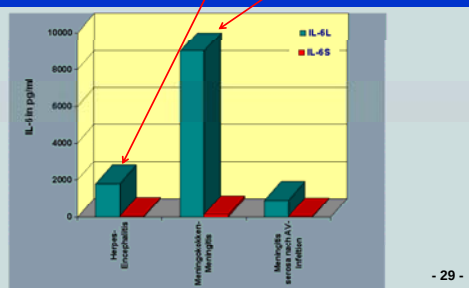
IL-6 in der Neonatologie
Zeitverlauf von IL-6 und CRP nach LPS-Bolusinjektion

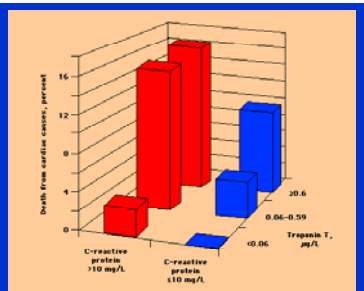


IL-6 in der Neonatologie
Enterokokkensepsis



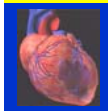
IL-6 in der Neonatologie
Meningitisdiagnostik: DD virale vs. bakterielle Infektion

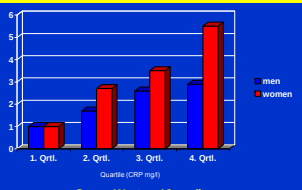




Elevated levels of C-reactive protein predict long-term outcome in unstable angina In the FRISC trial of 917 patients with unstable angina, elevated levels of C-reactive protein, obtained within 24 hours, are associated with an increased incidence of death from cardiac causes at two years; its effects are additive to maximal troponin T levels. (Data from Lindahl, B, Toss, H, Siegbahn, A, et al, N Engl J Med 2000; 343:1139.)

Herzinfarkt: CRP und relatives Risiko





Grenz-Wert: < 10 mg/l

women	<1.5	1.5-3.7	3.8-7.3	>7.3
men	<0.6	0.6-1.1	1.2-2.1	>2.1

Women's Health Study (Ridker PM NEJM, 1997)
Physicians' Health Study (Ridker PM Circulation, 1998)

Procalcitonin (PCT) vs. Mikrobiologie

Systemische Infektion
- Gram negative Bakterien > 100 ng/ml
- Gram positive Bakterien > 50 ng/ml
- Parasiten & Pilze > 10 ng/ml
- Negativ bei: Viren, intrazellulären Erregern
  => Neopterin

Lokale Infektion
- 0,05 - 0,5 ng/ml
- < 0,05 ng/ml (gesund)

Vorteile
- Abnahmezeitpunkt jederzeit
- Volumen klein
- Gefäße, Transport & Lagerung unproblematisch
- Keine Kontamination
- Auch gekapselte Prozesse (Abszess)
- Schnelles Ergebnis (2 Std.)
- Quantitatives Ergebnis
- Preiswert

Nachteile
- Keine Keimidentifizierung
- Kein Antibiogramm

Klinische Chemie & Laboratoriumsdiagnostik

Vorlesung: Diabetes mellitus – die Wohlstandsepidemie

Prof. Dr. med. Paul Cullen

Medizinisches Versorgungszentrum
für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie,
Hygiene und Umweltmedizin
Dr. Löer, Dr. Treder und Kollegen
Hafenweg 11
D-48155 Münster
Tel.: 0251 60916-0
Fax: 0251 60916-164
cullen@uni-muenster.de
zlab-lehre@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

Hauptformen des Diabetes mellitus*

- Typ 1 Diabetes
  - β-Zellzerstörung, absoluter Insulinmangel, entweder autoimmun oder idiopathisch.
- Typ 2 Diabetes
  - Insulinresistenz, relativer Insulinmangel. Starke genetische Komponente. Transport von Glukose in die Muskelzelle mittels Glut 4 möglicherweise defekt**.

*ADA 1999 Diabetes Care 1999; 22:S7, ** Cline et al. New Engl J Med 1999; 341:240

Seltenere Formen des Diabetes mellitus*

- Seltene Formen
  - Genetische Defekte der β-Zellfunktion, z.B. MODY
  - Genetische Defekte der Insulinwirkung
  - Erkrankungen des exokrinen Pankreas, z.B. Pankreatitis
  - Hormonelle Störungen z.B. Akromegalie, M. Cushing
  - Medikamente, Gifte, z.B. Kortikosteroide, Thiazide, Vacor
  - Infektionen, z.B. CMV, kongenitale Rubella
  - Seltene Immunformen, z.B. Antikörper gegen Insulinrezeptor
  - Andere genetische Syndrome, z.B. Klinefelter Syndrom
- Schwangerschaftsdiabetes

*American Diabetes Association 1999 Diabetes Care 1999; 22:S7

Diabetes mellitus

- In Deutschland (nach Fettstoffwechselstörungen) die zweithäufigste, weltweit die häufigste Stoffwechselstörung
- Prävalenz:
  - Typ 1: 0,2% bis zum 16. Lebensjahr (160.000 Fälle in Deutschland)
  - Typ 2: mind. 5% (mind. **4 Mio. Fälle** in Deutschland) stark altersabhängig

Klinik des Diabetes mellitus

Typ 1	**Typ 2**
Jung	**Erwachsen**
Dünn	**Übergewichtig**
Stirbt ohne Insulin	**Insulinspiegel erhöht**
Lipide, Blutdruck normal	**„Metabolisches Syndrom“**
Eher sporadisch	**Eher familiär**
Tritt rasch auf	**Tritt schleichend auf**
Stoffwechsel labil	**Stoffwechsel stabil**
Polyurie, Polydipsie	**Polyurie, Polydipsie**

Komplikationen des Diabetes mellitus

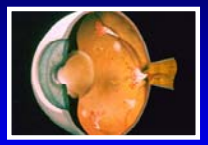
- Akute
  - diabetische Ketoazidose (Typ 1)
  - hypoglykämischer Schock (Typ 1)
  - hyperosmolares hyperglykämisches Syndrom (Typ 2)
- Chronische
  - diabetische Retinopathie (Mikroangiopathie)
  - diabetische Nephropathie (Mikroangiopathie)
  - Atherosklerose (Makroangiopathie)
  - Neuropathie

Typ 2 Diabetes: Komplikationshäufigkeit bei Erstvorstellung in einer deutschen Reha-Klinik*

- Retinopathie - 47%
- Erblindungspotential - 16%
- Neuropathie - 26%
- Nierenschäden - 27%

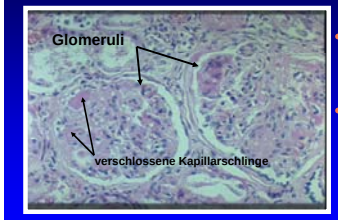
*Bad-Kissinger-Diabetes-Interventionsstudie 1998

Komplikationen des Diabetes mellitus: Retinopathie



- **Typ 1: Befällt fast alle Patienten nach 20 Jahren**
- **Typ 2: Bei Diagnose in 20%, nach 20 Jahren in > 60%**
- **Risiko erhöht bei Mikroalbuminurie oder HbA1c > 8%**

Komplikationen des Diabetes mellitus: Nephropathie



Diabetische Glomerulosklerose (Kimmelstiel-Wilson)

- **Häufigste Ursache für Nierenversagen in Deutschland**
- **Befällt etwa 25% aller Patienten mit Typ 1 oder Typ 2 Diabetes mellitus**

Komplikationen des Diabetes mellitus: frühzeitige Atherosklerose

Schlaganfall Aortenaneurysma

Myokardinfarkt Arterielle Verschlusskrankheit

Diabetische Makrovaskulopathie

Neue Kriterien zur Diagnose eines Diabetes mellitus

- Polyurie, Polydipsie, unerklärlicher Gewichtsverlust plus Glukose **> 200 mg/dL** im Plasma oder Kapillarblut zu irgendeiner Tageszeit

oder

- Glukose **> 126 mg/dL** im Plasma oder > 110 mg/dL im Kapillarblut bei einem Patienten, der seit mindestens 8 Stunden nichts gegessen hat

oder

- Glukose **> 200 mg/dL** im Plasma oder Kapillarblut 2 Stunden nach Trinken von 75 g Glukose in Wasser

ADA, WHO, Kerner W. Dt Ärztebl 1999; 95:3144

Durchführung des oralen Glukosetoleranztests

- Voraussetzungen
  - Morgens nach 10-16 stündiger Nahrungskarenz.
  - ≥ 3 Tage Ernährung mit ≥ 150 g Kohlenhydrat/Tag.
  - Patient sitzend oder liegend.
  - Rauchverbot vor dem Test und während des Tests.
- Durchführung
  - Zuerst wird Blut im Glukose-Röhrchen (Fluorid) abgenommen.
  - Danach trinkt der Patient innerhalb von 5 Minuten 75 g Glukose, gelöst in 250 ml Wasser (Kinder 1,75 g/kg Körpergewicht).
  - Nach 2 Std. wird Blut erneut im Glukose-Röhrchen abgenommen.

WHO, Kerner W. Dt Ärztebl 1999; 95:3144

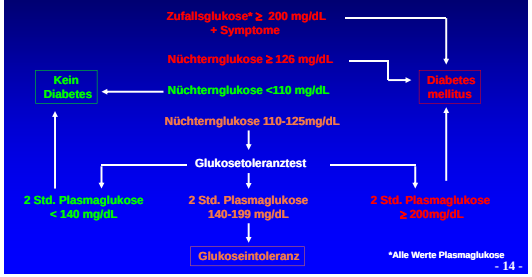
Neue Definition einer gestörten Glukosetoleranz

	Nüchtern	2 Std. nach 75 g Glukose
Diabetes mellitus	≥ 126 mg/dL*	≥ 200 mg/dL
Gestörte Glukose-toleranz	110-125 mg/dL	140-199 mg/dL
Normalbefund	< 110 mg/dL	< 140 mg/dL

*Alle Werte Plasmaglukose

WHO, Kerner W. Dt Ärztebl 1998; 95:3144

!!! WICHTIG !!!
Flussdiagramm zur Diagnose eines Diabetes mellitus



Glucose schnell messen!

- **Bei Raumtemperatur im Vollblut schnell verstoffwechselt (ca. 6 mg/Std.)**
- **Auch im Kühlschrank fällt Konzentration im Vollblut (ca. ein Fünftel über Nacht)**

Daher ...

- **Natrium-Fluorid-Röhrchen**
- **Möglichst schnell bestimmen**

Begleitende Laboruntersuchungen bei der Erstdiagnose eines Diabetes mellitus

- **Urin (Albumin, Bakterien, Glukose, Ketonkörper)**
- **Nierenfunktion (Kreatinin)**
- **Langzeitparameter (HbA1c u. Fructosamin)**
- **Lipidstatus**
- **Schilddrüsenfunktion**
- **Evtl. Autoantikörper zur Differenzierung von Typ 1 und Typ 2**

Antikörper-Untersuchungen bei Diabetes mellitus

Antikörper gegen:	In Typ 1 DM nachweisbar bei:
Inselzellen	ca. 80%
Tyrosinphosphatase IA-2A	ca. 75%
Glutamat-Decarboxylase	ca. 60%
Insulin	vor dem 5. LJ 100%, nach dem 10. LJ 15%

Antikörper-Untersuchungen bei der Differenzierung von Typ 1 und Typ 2 Diabetes mellitus

Indikation

- Differenzierung zwischen Typ 1 und Typ 2 Diabetes mellitus.
  - Positiv bei insgesamt ca. 75% zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Danach fällt Prävalenz rasch ab.
- Aussage über Prognose, da Spiegel im Vorfeld der Erkrankung erhöht
  - 65% der Glutamat-Decarboxylase AK-positiven Patienten, die bei Diagnosestellung orale Antidiabetika erhalten, werden insulinpflichtig.
- Rolle bei Pathogenese unklar.

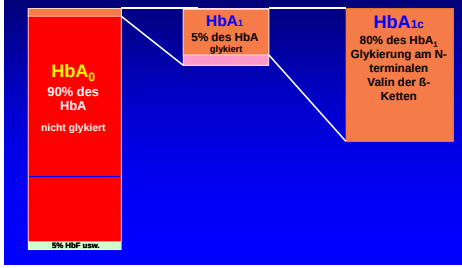
Therapiekontrolle des Diabetes mellitus

- **Typ 1: Blutzucker-Selbstkontrolle 3-5 mal pro Tag**
- **Typ 2: abhängig von Therapie**
- **Falls Blutzucker-Kontrolle nicht möglich: Urinkontrolle**
- **HbA1c alle 3 Monate**
- **Lipidstatus (nüchtern) einmal im Jahr**
- **Quantitative Albuminausscheidung einmal im Jahr**

Glykosyliertes Hämoglobin (HbA1c)

- **HbA1c: Entsteht durch Glykosylierung von Hämoglobin**
- **Anteil von HbA1c am Gesamthämoglobin hängt von Blutglukosekonzentration der letzten 8 bis 10 Wochen ab**
- **Nach Therapieumstellung ist eine Änderung nach 4 Wochen zu erwarten**

Glykierte Hämoglobine



Glykosyliertes Hämoglobin: Zielwerte

	HbA1	HbA1c
Normalpersonen	bis 6%	
Optimale Einstellung	**bis 8%**	**bis 6,5%**
Befriedigende Einstellung	8 bis 10%	7 bis 8%
Unbefriedigende Einstellung	10 bis 12%	>8%
Dekompensierter Diabetes	über 12%	

Zweifel an Wirkung der Hba1c-Senkung bei der Prävention makrovaskulärer Komplikationen

ACCORD[1] (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes)
n = 10.251, Alter 62 Jahre, Typ 2 DM seit 10 Jahren, Behandlung für 3,4 Jahre

ADVANCE[2] (Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron Modified Release Controlled Evaluation)
n = 11.140, Alter 66 Jahre, Typ 2 DM seit 8 Jahren, Behandlung für 5 Jahre

[1]New Engl J Med 2008; 358:2545-59; [2]New Engl J Med 2008; 358:2560-72

Zweifel an Wirkung der Hba1c-Senkung

	ACCORD	ADVANCE
Mittlerer HBa1c-Wert	6,4 vs. 7,5	6,4 vs. 7,0
Tod, alle Ursachen (%)	**5,0 vs. 4,0***	8,9 vs. 9,6
Kardiovaskulärer Tod	**2,6 vs. 1,8***	4,5 vs. 5,2
Nicht-tödlicher Herzinfarkt (%)	3,6 vs. 4,6	2,7 vs. 2,8
Nicht-tödlicher Schlaganfall (%)	1,3 vs. 1,2	3,8 vs. 3,8
Schwere Hypoglykämie	3,1 vs. 1,0*	0,7 vs. 0,4
Gewichtszunahme (kg)	3,5 vs. 0,4	0,0 vs. –1,0*
Raucher (%)	10 vs. 10	8 vs. 8

* p < 0,5

HbA1c ▶ Verlaufskontrolle

Konventionelle Therapie ...

➢Alle 3 bis 6 Monate

Intensivtherapie ...

➢Alle 1 bis 2 Monate

Albuminurie und Nierenfunktion bei Diabetes mellitus

Stadium	GFR	Protein im Urin	Kreatinin im Blut
I (Hypertrophie)	↑	Mikroalbuminurie (reversibel)	Normal
II (feingeweb. Veränd.)	N	Normal (< 30 mg/24 h)	Normal
III (beg. Nephropathie)	N	Mikroalbuminurie (30-300 mg/24 h)	Normal
		Grenze der Umkehrbarkeit	
IV (manif. Nephropathie)	↓	Albuminurie (> 300 mg/24 h)	Grenzwertig
V (Niereninsuffizienz)	↓↓	Nicht selektive Proteinurie	Erhöht

Wann ist es sinnvoll, Glukose im Urin zu messen?

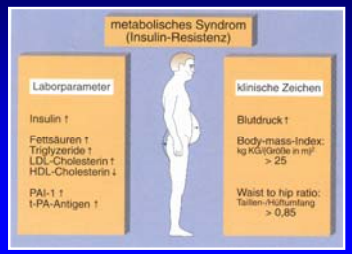
- **Diabetes Suchtest, bes. postprandial u. bei Typ 1**
- **Selbstkontrolle bei älteren Patienten**
- **Schwangerschaft ab dem 3. Monat**

Wer soll auf Diabetes mellitus gescreent werden?

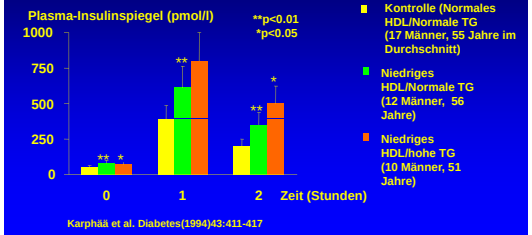
- **Alle Personen nach dem 45. Lebensjahr**
- **Übergewichtige**
- **Verwandte 1. Grades mit Diabetes mellitus**
- **Frau mit Schwangerschaftsdiabetes oder Kind bei Geburt > 4 kg**
- **Hypertonus**
- **Fettstoffwechselstörung**
- **Erhöhte Blutglukose bei früherer Untersuchung**

WHO, Kerner W. Dt Ärztebl 1999; 95:3144

Diabetes mellitus und das metabolische Syndrom



Insulinspiegel ist nach Glukosebelastung höher bei Patienten mit metabolischem Syndrom



Karphää et al. Diabetes(1994)43:411-417

Diabetes mellitus Typ 2

- **Einem Diabetes mellitus geht immer eine Glukoseintoleranz über Monate oder Jahre voraus**
- **Glukoseintoleranz kann durch Gewichtsreduktion und körperliche Bewegung geheilt werden**
- **Behandlung mit Acarbose (alpha-Glucosidase-Inhibitor), Metformin (Biguanid), Pravastatin, Ramipril (ACE-Inhibitor), Losartan (Angiotensin Rezeptor-Blocker) können Entwicklung eines Typ II Diabetes verhindern**

Labordiagnostik bei Diabetes mellitus: Ausblick in die Zukunft

- **Verbesserung der genetischen Risikoprädiktion**
  - **Risikomarker**
  - **Expressionsanalytik**
  - **HLA-Untersuchungen**
- **Bessere Überwachung nach Pankreastransplantation**
- **Kybernetik: Künstliche Bauchspeicheldrüse**

Klinische Chemie & Laboratoriumsdiagnostik
Vorlesung: Nieren- und Urindiagnostik

Dr. med. Michael Erren
Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33
D-48149 Münster
Telefon: 0251 83-47233
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.ukm-muenster.de
erren@uni-muenster.de

Sommersemester 2012

Erstellung einer Diagnose

Anamnese 70%

Anamnese:
- Volumen
- Transparenz
- Farbe
- Schaumig
- Geruch
- Pollakisurie
- Nykturie
- Dysurie

Körperliche Untersuchung 20%

Körperlicher Befund:
- Anämisch
- Café-au-lait-Farbe
- Lidödeme

Apparative Untersuchung 10%

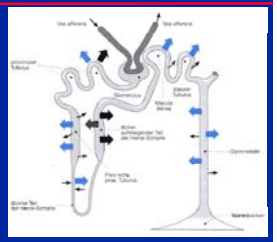
Funktionen der Niere

Homöostase:
- Wasser- und Elektrolythaushalt
- Säure-Basen-Haushalt

Ausscheidung stickstoffhaltiger Metabolite:
- Proteine (Harnstoff)
- Nukleotide (Harnsäuren)

Synthesefunktion:
- Erythropoetin
- Vitamin D (Calcitriol)

Hormonelle Regulation:
- Parathormon (PTH)
- Renin, Angiotensin, Aldosteron
- Antidiuretisches Hormon (ADH)



Glomeruläre Funktionsuntersuchungen (Serum/Plasma)
Keine differentialdiagnostischen Hinweise!
Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C

Indikationen:
- Screening zur Überprüfung der Nierenfunktion
- Monitoring
  - o Dialyse-Patienten
  - o Medikation mit nephrotoxischen Medikamenten (z.B. Antibiotika, Zytostatika)
- Dosisanpassung von Medikamenten

Glomeruläre Funktionsuntersuchungen Harnstoff (Serum/Plasma)
- Proteinzufuhr, Katabolismus (Fieber, Kachexie) Nierenperfusion (Diurese, Antidiurese)
- Azotämie
- Niereninsuffizienz (ANV => perfusionsabhängig) Nierentransplantation: Abstoßung
- Diagnostische Lücke: GRF-Einschränkung 75% Referenzbereich: < 50 mg/dl
- Nachweis: Farbstoff oder enzymatisch

Glomeruläre Funktionsuntersuchungen Kreatinin (Serum/Plasma)
- Abhängig von Muskelmasse, Geschlecht, Alter
- Alter:
  1 Jahr: 0,6 mg/dl
  13 Jahre: 1,0 mg/dl
  > 18 Jahre: 1,3 mg/dl
  im Alter: konstant (GFR↓)
- Diagnostische Lücke: GRF-Einschränkung 50% Referenzbereich: 1,3 mg/dl
- Formeln zur Abschätzung der Kreatinin-Clearance:
  Cockroft & Gault: Serumkreatinin verrechnet mit **Alter, Gewicht**
  MDRD (< 60 ml/Min.): Serumkreatinin verrechnet mit **Alter, Geschlecht, Rasse**
  [MDRD = Modification of Diet in Renal Disease]
- Bestimmungsmethoden (Jaffe, enzymatisch)

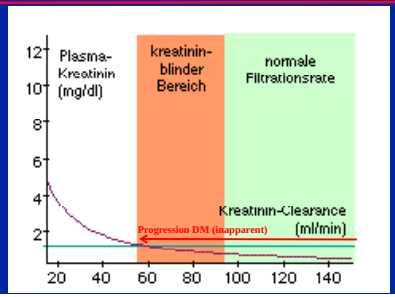
Glomeruläre Funktionsuntersuchungen Cystatin C (Serum/Plasma)
- Produziert von allen kernhaltigen Zellen
- Unabhängig von: Ernährung, Muskelmaße, Fieber, Alter, Geschlecht
- Diagnostische Lücke: GFR-Einschränkung 30 - 40% Referenzbereich: 0,96 mg/l
- Umrechnungsformel: Cystatin C auf GFR

$$\text{glomeruläre Filtrationsrate (ml/Min.)} = \frac{74{,}835}{\text{Cystatin C (mg/l)}^{1.333}}$$

Differentialdiagnostische-Untersuchungen (Serum/Plasma)
- Anti-Streptolysin (ASL), Anti-DNAse B (ADB)
- Komplementfaktor C3
- Anti-dsDNA-AK
- Anti-Basalmembran-AK
- Monoklonale Immunglobuline
- Goldstandard: Biopsie (GN, TX)
- Bild: Echo, Rö, CT, MRT, Szinti

Clearance Untersuchungen (Serum/Plasma + Urin)
- Formel: U x V / S x T
- Formel adjustiert: U x V / S x T x Körperoberfläche / 1,73 m²
- Kreatinin-Clearance: 110 ml/Min. (bis 30 Jahre; ♂ > ♀) (geringe diagnostische Lücke)
- Inulin-Clearance: 120-150 ml/Min. (keine diagnostische Lücke)
- PAH-Clearance: 500-800 ml/Min. (Paraaminohippursäure: glomerulär filtriert + tubulär sezerniert)
- Filtrationsfraktion: Inulin / PAH: circa 0,2 [DD: glomerulär vs. vaskulär]

Kreatinin-Clearance



Untersuchungen im Urin

Uringewinnung
- Spontanurin/Morgenurin
- Mittelstrahlurin (> 100.000 Bakterien/ml = signifikante Bakteriurie [„Kass' Zahl])
- Kathederurin/Invaginationskatheder
- Suprapubische Punktion
- Sammelurin (24 Std.)

Blutiger Urin
- 3 Gläser-Probe

Sammelurin

- Morgens Harnblase komplett leeren
- Urin in Sammelgefäß für 24 Stunden sammeln
- Sammelmenge feststellen und dokumentieren
- Urin aufschütteln und 10 ml Aliquot ins Labors schicken
- Am Ende der Sammelperiode: Blutabnahme
- Häufigster Fehler:
  - Sammelfehler durch Patienten (eindeutige Instruktion!)
  - Falsche Dokumentation der Sammelmenge

Untersuchungen zur tubulären Funktion

Funktion des Tubulusapparates:
Rückgewinnung aus Primärharn:
Wasser, Elektrolyten, Glucose, Proteine

- Urinosmolarität > 600 mosmol / kg: => OK
  < 600 mosmol / kg: => nicht OK

Funktionstest (Durstversuch): 12 Stunden Dursten => 3x
DD: Diabetes insipidus, tubulärer Schaden, Pyelonephritis, Nephrokalzinose, Gichtniere

- Nachweis von Glucose (Glucosurie):
  Diabetes mellitus, Schwangerschaft, angeboren Stoffwechselstörungen

Proteinuriediagnostik
- Menge vermehrt (> 150 mg Protein/Tag) oder unphysiologisches Muster
- Mikroalbuminämie: 30 - 300 mg Albumin/Tag (20-200 mg/l)
  - normale Teststreifen: geringe Nachweisgrenze (200 mg/l) => immunologische Schnelltests (20 mg/l) oder Labor (Biuret)
  - normale Teststreifen: nur Albumin, keine Globuline => Labor (Biuret)
- Makroalbuminurie: > Mikroalbuminurie

Leitproteine:
- Prärenal: freies Hämoglobin, Myoglobin, Bence-Jones-Proteine
- Glomerulär: Albumin, IgG
- Tubulär: α_1- und β_2-Mikroglobulin
- Postrenal: Blutung (α_2-Makroglobulin)

Leichte Proteinurie:
< 100 mg (körperliche Belastung, orthostatische Dysregulation)

Urinteststreifen (Sticks)

- Primärdiagnostik
- Frischer Urin (2-4 Stunden)
- Aufschütteln (zelluläre Komponenten)
- Eintauchen 1 Sekunde (cave: Auswaschen der Nachweisreagenzien)
- Ablesen nach 60 Sekunden
- Evtl. Auswertung mit Autoanalyser (Streifenleser)

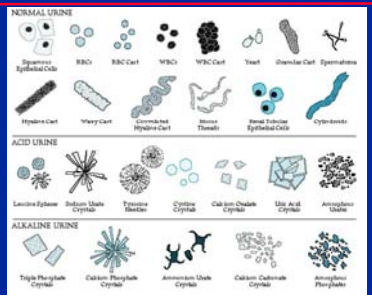
Urinsediment
- Bei positivem Urinteststreifen => mikroskopische Beurteilung (300-400x Vergrößerung)
- Frischer Urin (2-4 Stunden)

Untersuchungsmethoden:
- Sediment (semiquantitativ, Angabe pro Gesichtsfeld)
  - Zentrifugation (800 g / 5. Min.)
  - Normal: < 2 Ery/GF (5/µl)
    < 5 Leukozyten/GF (10/µl)
  Schnellstreifentest: Nachweisgrenze Leukozyten 20/µl
  Frauen: 40% falsch positiv [Fluor]
- Zählkammer (quantitativ, Angabe pro µl)
  - Keine Zentrifugation

Urinsediment – nachweisbare Strukturen

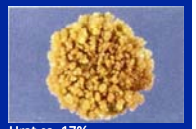
- Zellen:
  Erythrozyten (2x), Leukozyten (5x), Plattenepithelien (Xx),
  Rundzellen, Tubulusepithelzellen
- Zellzylinder:
  Erythrozytenzylinder, Tubulusepithelzylinder, Leukozytenzylinder
- Proteinzylinder:
  Hyaline Zyline, **Granulierte Zylinder, Wachszylinder**
- Mikroorganismen:
  Bakterien, Pilze, Parasiten, Urtierchen (z.B. Trichomonaden)
- Kristalle:
  Oxalat, Urat, Phoshat, Cystin

Urinsediment – nachweisbare Strukturen



Harnsteine

Calciumsalze (Oxalat u. Phosphat) ca. 65%


Urat ca. 17%

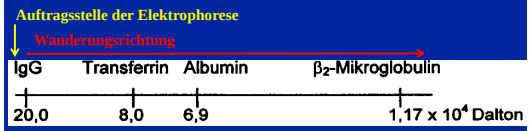
Magnesium-Ammonium Phosphat ca. 14%

Cystin ca. 1%

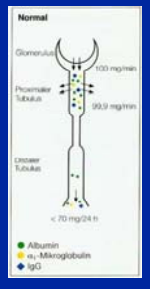
Differenzierung Proteinämie

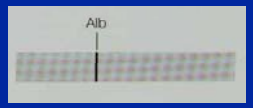
- Prärenal
- Glomerulär
- Tubulär
- (Glomerulär-Tubulär)
- Postrenal

Verteilung der Molekulargewichte der Urinproteine

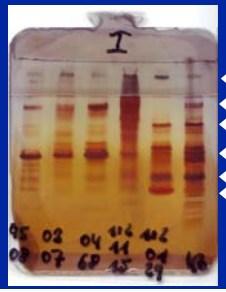


Proteinuriediagnostik: Normalzustand

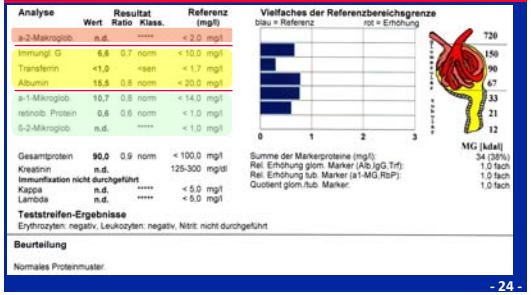




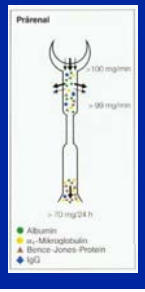
Proteinuriediagnostik: Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)

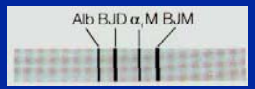


Differenzierung Proteinurie



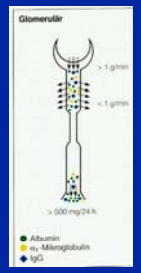
Proteinuriediagnostik: Prärenale Proteinurie

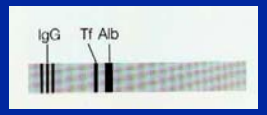


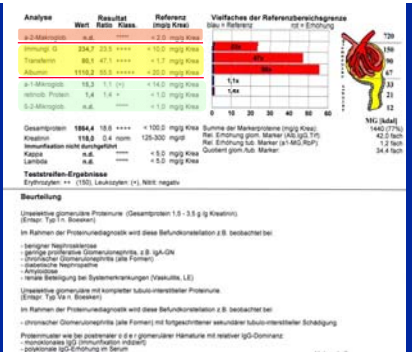


- Bence-Jones Proteinurie (Plasmozytom)
- Hämoglobinurie (Hämolyse)
- Myoglobinurie (Rhabdomyolyse)

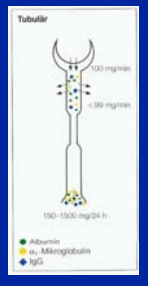
Proteinuriediagnostik: Glomeruläre Proteinurie (nicht selektiv)

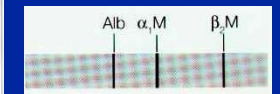




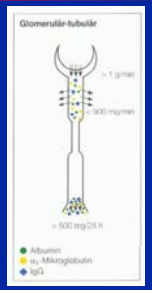


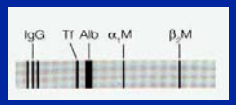
Proteinuriediagnostik: Tubuläre Proteinurie

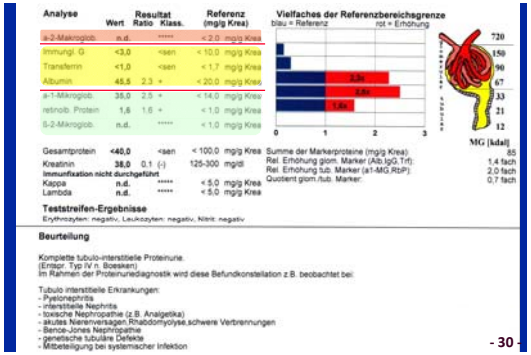




Proteinuriediagnostik: Glomerulär-tubuläre Proteinurie



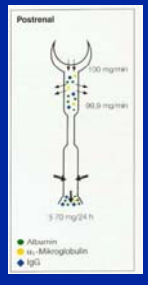




Proteinuriediagnostik: Postrenale Proteinurie

- Entzündung oder Blutung im Bereich ableitender Harnwege
- Serumproteinen > 250 kDa im Harn
  in serumähnlichen Verhältnissen:
  - α_2-Makroglobulin
  - IgG
  - Albumin

Proteinuriediagnostik: Postrenale Proteinurie



Klinische Chemie & Laboratoriumsmedizin
Vorlesung: Präanalytik und Qualitätskontrolle

Dr. rer. nat. Manfred Fobker

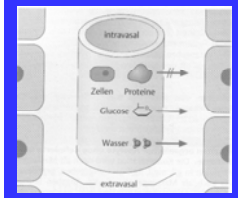
Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Strasse 33
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-48701
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.uni-muenster.de
fobker@uni-muenster.de

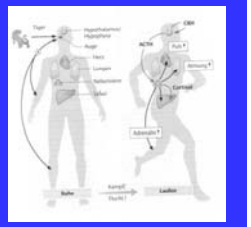
Sommersemester 2012

Einflußgrößen/Störfaktoren

Einflußgrößen ("in vivo")	Störfaktoren ("in vitro")
Körperlage/Stau-Dauer	Nadellumen/Einstechtiefe
Ernährung/Alkohol/Rauchen	Arzneimittel/Infusionen
Zirkadiane Rhythmik	Hämolyse
Körperliche Belastung	Lipämie
Schwangerschaft	Hyperbilirubinämie
Medikamente	
Rasse	Antikoagulantien
Alter	
Geschlecht	
Erbfaktoren	

Körperlage/Stauung





großmolekulare Analyten (Proteine)

Adrenalin, Noradrenalin, Renin, Cortisol

Nahrungsaufnahme

γ-GT, MCV (mittleres Zellvolumen), CDT (Kohlenhydrat- defizientes Transferrin)

Triglyceride, Glucose

Rauchen, Medikamente

CEA (Carcino-embryonales Antigen), CO-Hb, Schwermetalle

Lipobay, i.m. Inj. (CK), γ-GT (Narkose), Harnsäure, Thrombopenie (Zytostatika)

Biorhythmen

Parameter	Maximum	Max. Abweichung
Cortisol	Morgens	50-100 %
Eisen	Variabel	100 %
Somatotropin	Abends	400 %

Alters-/geschlechtsabhängige Einflüsse

- Bilirubin
- Alkal. Phosphatase (AP)
- Immunglobuline

- Hb
- Hormone

Körperliche Aktivität, Muskelmasse, Körpergewicht

Makromoleküle, Creatinkinase, HDL, LDH

CK, Creatinin, LDH

Cholesterin, TG, Protein, Glucose

Schwangerschaft

- Hormone (HCG, Estriol, AFP)
- AP (Plazenta-AP)
- Cholesterin, Triglyceride

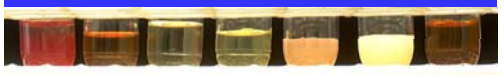
- Hämatokrit
- Eisen, Magnesium
- Protein

Vergrößerung des Plasmavolumens

Blutentnahme

- Staudruck (ca. 30 mm Hg), < 2 min, kein Pumpen
- gleiche Lageposition in Ruhe (10 min)
- Gleicher Zeitpunkt (ca. 7-9 Uhr)
- 12 Std. Nahrungskarenz
- Vor diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen

Störfaktoren



Urin

Serum

- Hämolyse ⇨ Entnahmefehler
- Lipämie ⇨ nicht nüchterner Patient
- Bilirubinämie ⇨ krankheitsbedingt

Fehlbestimmungen bei Hämolyse

Parameter	Vielfaches im Erythrozyten
Kalium	25!
GOT	40
LDH	160
Eisen	550

- Eigenextinktion des Hb
- Störung der chem. Analysenreaktion (Pseudoperoxidase-Aktivität des freien Hämoglobins interferiert mit Bilirubin-Bestimmung, freigesetzte Proteasen beeinträchtigen die Aktivität von Gerinnungsfaktoren, freigesetzte Adenylatkinasen beeinflussen CK und CK-MB-Bestimmung; falsch hohe Werte)

Hämolyse-Ursachen I

- lange Stauung
- starkes Aspirieren
- langes Stehen des Vollblutes
- starkes Abkühlen oder Erwärmen
- starkes Zentrifugieren
- kleines Nadellumen

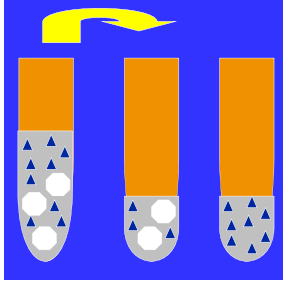
Hämolyse-Ursachen II

Wie kann man eine in-vivo-Hämolyse von einer in-vitro-Hämolyse unterscheiden ?

In-vivo-Hämolyse: Abfall von Haptoglobin/Hämopexin
Anstieg des indirekten Bilirubins
Erhöhung der Retikulozytenzahl

In-vitro-Hämolyse: falsch-pathologische Erhöhung von Kalium, LDH, freiem Hb

„Pseudohyponatriämie" bei Lipämie



Das durch Lipide/Lipoproteine eingenommene Volumen wird bei der Berechnung der Analytkonzentration mit berück-sichtigt:

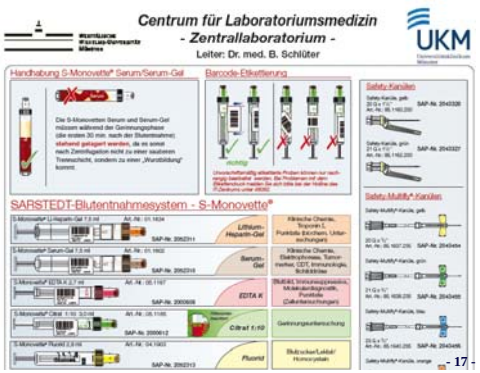
Verminderung von Analytkonzentrationen bei massiver Lipämie (z.B. Pseudohyponatriämie)

Warum kann es bei ikterischen Proben zu fehlerhaften Laborbefunden kommen?

Bilirubin hat eine starke Absorptionsfähigkeit für Licht, photometrische Bestimmungsverfahren können dadurch beeinträchtigt werden (z.B. Gerinnungsanalysen).

Enzymatische Teste, die auf Oxidase/Peroxidase-Reaktionen basieren, liefern bei Ikterus (Bilirubin > 25 µmol/l) falsch niedrige Ergebnisse

Betroffen sind u.a. Methoden zur Bestimmung von Glucose, Cholesterin, Triglyzeriden, Harnstoff und Kreatinin



- 17 -

Hämostaseologie I

Was passiert bei …

- zu langer Venenstauung
- zu intensiver Venenstauung
- Verwendung kleinlumiger Kanülen?

Frühzeitige Aktivierung von Gerinnungsfaktoren mit Teilgerinnung des Probenmaterials

In-vitro-Verbrauch von Fibrinogen, Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten

Laborbefund täuscht das Bild einer Verbrauchskoagulopathie vor !

- 18 -

Hämostaseologie II

Welchen Einfluß hat ein Hämatokrit von > 60% auf die Gerinnungszeiten?

Bei einem Hämatokrit von > 60% verlängern sich die Gerinnungszeiten!

Warum?

Hohe Zellzahl → Verminderung des Plasmakompartiments

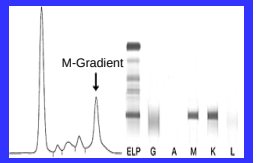
→ **Überschuß an Zitrat im Probenröhrchen!**

- 19 -

Serumeiweißelektrophorese

Warum darf für die Serumeiweißelektrophorese kein Plasma genommen werden?

Plasma



Serum bei monoklonaler Gammopathie

- 20 -

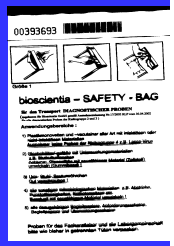
EDTA-Plasma vs. Serum

	EDTA-Plasma	Serum
Kalium	**15 mmol/L**	**4 mmol/L**
Calcium	**< 0.02 mmol/L**	**2 mmol/L**
Alk. Phosphat.	**3 U/L**	**140 U/L**

- 21 -

Gefahrgutverordnung

Gefahrgutverordnung Straße und Eisenbahn (GGVSE) seit 1.6.2001



- 22 -

Lagerung

- Klinische Chemie 1 Woche
- Hämatologie 24 Stunden
- Gerinnung 8 Stunden

Serum zu alt!

- ↑ Kalium, GOT, LDH
- ↑ Lactat, Ammoniak
- ↓ Glucose

- 23 -

Fehlertyp		zufällige Fehler	systematische Fehler	grobe Fehler
				falsche Scheibe benutzt
Präzision	optimal	schlecht	gut	–
Richtigkeit	optimal	gut	schlecht	–

interne Qualitätskontrolle:

Kontrolle der **Präzision** (zufällige Fehler, Reproduzierbarkeit, Drift)

Kontrolle der **Richtigkeit** (systematische Fehler, Übereinstimmung mit Zielwert)

Splittingkontrolle

externe QK:

Ringversuche (Richtigkeitskontrollen)

Akkreditierung (Prozessbeurteilung im Labor)

- 24 -

BUNDESÄRZTEKAMMER

Bekanntmachungen

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen

- Veröffentlicht im Deutschen Ärzteblatt 15. Februar 2008

TABELLE B 1 a (Fortsetzung)

Analyte in Plasma/Serum/Vollblut

1 lfd.	2 Analyt	3 Zulässige relative Abweichung des Einzelwertes bzw. des relativen quadratischen Mittelwertes	4 Gültigkeitsbereich der Spalten 3 und 5 von	bis	Einheit	5 Zulässige relative Abweichung beim Ringversuch	6 Zielwertart beim Ringversuch
50	Progesteron	17,0 % 22,0 %	> 5,0 > 16 0,2 0,6	35 111 ≤ 5,0 ≤ 16	µg/l nmol/l µg/l nmol/l	35,0 %	RMW
51	Prostataspezifisches Antigen (PSA)	15,5 %	0,2	50	µg/l	25,0 %	SW

- 25 -

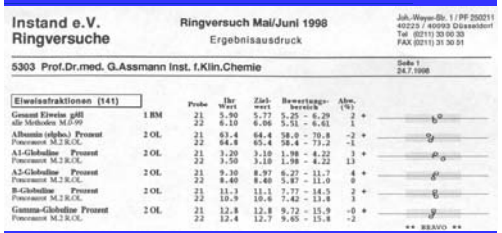
Rili-BÄK Teil A

Grundlegende Anforderungen an die Qualitätssicherung

- Erstellung eines Qualitätsmanagementhandbuchs
- Beschreibung des Labors, Rechtsstatus, Aufgaben
- Leitung, Verantwortlichkeiten, Qualifikation, Gesundheitsschutz
- Mitarbeiter
- Ablauf im Labor: Beschwerdemanagement
  Feststellung von Fehler, Korrekturmaßnahmen
  vorbeugende Maßnahmen (Schulungen)
  Wartungen, Standardarbeitsanweisungen (SOP)
  interne Audits ...

- 26 -

Externe Qualitätskontrolle (Ringversuche)



Kontrollproben (2 Konzentrationen) werden nach Anmeldung von der Ringversuchsleitung verschickt. Teilnahme einmal pro Quartal ist Pflicht. Wird kein Zertifikat erteilt, muß die Ursache geklärt, beseitigt und dokumentiert werden.

- 27 -

Hämatologie I

Warum führen Aggregatbildungen zu falschen Laborergebnissen?

Automatische Blutbildgeräte erkennen Aggregate nicht

→ **Falsch-niedrige Thrombozytenzahlen**

→ **Falsch-hohe Leukozytenzahlen (bei Aggregaten in entsprechender Größe)**

- 28 -

Hämatologie II

Wie kommt es zu einer EDTA-induzierten Thrombozytopenie?

Ursache meist IgG-Antikörper, die Epitope auf der Thrombozyten-membran erkennen, die nach Kalziumbindung durch EDTA exponiert werden.

Wie kann man sich die Entstehung eines Satelliten-Phänomens erklären?

Auto-Antikörper, die Epitope auf der Thrombozyten-und Neutrophilenmembran erkennen.

- 29 -

Hämatologie III

Wie lassen sich Aggregationsphänomene erkennen?

Aggregatbildung ist zeit- und temperaturabhängig: Patienten zeigen bei wiederholter Messung große Variabilität in der Thrombozytenanzahl.

Aggregatbildung ist im gefärbten Blutausstrich zu erkennen.

Verbesserung der Problematik
ggfs. Durch Verwendung alternativer Antikoagulantien (Citrat, Oxalat, Heparin; wirkt nicht in allen Fällen!)

- 30 -

Hämatologie IV

Was passiert, wenn in einer Probe hochtitrig Kälteautoantikörper enthalten sind?

Nach Probennahme und Abkühlung:
Agglutination der Erythrozyten in der Probe

Woran erkennt man eine solche Situation im Blutbildautomaten?

- Falsch-niedrige Erythrozyten bei normalem Hämoglobin!
- Stark erhöhte MCV-Werte
- Zu niedrige Hämatokrit-Werte
- Nicht plausibel hohe MCH- und MCHC-Werte
- Leukozyten- und Thrombozytenmessungen ggfs. falsch hoch

Abhilfe: Warmtransport oder Abnahme im Labor

- 31 -

Klinische Chemie

Wie kann man sich erklären, dass Serumenzyme konstant erhöht gefunden werden ohne ein klinisches Korrelat?

Mögliche Erklärung: Auftreten von Makroenzymen

Was sind Makroenzyme?

Zwei Sorten Makroenzyme bekannt: Makroenzyme Typ 1 und Typ 2

Makroenzyme Typ 1:

Großmolekulare Enzym-Immunglobulin-Komplexe

Stabilisierung der Enzymaktivität
und verzögerte Elimination aus dem Blut

Makroenzyme Typ 2:

Makroenzyme infolge von Selbstpolymerisation
oder Anlagerung an Membran- bzw. Serumkomponenten

- 32 -