

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Klinisch-chemischer Untersuchungskurs

Einführung



QR-Code / Folien dieser Vorlesung:
www.klichi.uni-muenster.de/folien.pdf
siehe auch [ELIA](#)

Dr. med. Michael Erren

Zentrale Einrichtung Labor

– UKM Labor –

Universitätsklinikum Münster

Albert-Schweitzer-Campus 1

48149 Münster

Tel.: 0251 83-48701

Fax: 0251 83-47225

erren@uni-muenster.de

www.klichi.uni-muenster.de



Wintersemester 2022/23

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Klinisch-chemischer Untersuchungskurs

Einführung



QR-Code / Folien dieser Vorlesung:
www.klichi.uni-muenster.de/folien.pdf
siehe auch [ELIA](#)

Dr. med. Michael Erren

Zentrale Einrichtung Labor

– UKM Labor –

Universitätsklinikum Münster

Albert-Schweitzer-Campus 1

48149 Münster

Tel.: 0251 83-48701

Fax: 0251 83-47225

erren@uni-muenster.de

www.klichi.uni-muenster.de



Wintersemester 2022/23

„Ärzte ohne pathophysiologische Kenntnisse
gleichen Maulwürfen:

„Sie arbeiten im Dunkeln,
und Erdhügel sind die Zeugen ihrer Tätigkeit.“

Weniger ist mehr !

Wenige Parameter sind wichtig für die klinische Versorgung.

Stellenwert

Indikationen

- Screening
 - Diabetes mellitus
 - Arteriosklerose
 - Prä-OP
- Differentialdiagnose
 - Organparameter
 - Infektionsdiagnostik
 - Molekulare Diagnostik
- Monitoring (Verlaufs- / Therapiekontrolle)
 - Tumormarker
 - Infektion / Sepsis
- Prognose / Risiko-Stratifizierung
 - Herzinfarkt (Nekrose-, Entzündungs- und Herzinsuffizienzmarker)

Methoden / Techniken

- Monoklonale Antikörper, HPLC / Massenspektrometrie, PCR / Sequenzierung

Ökonomie

Stufendiagnostik

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Klinisch-chemischer Untersuchungskurs

Vorlesung Entzündung



QR-Code / Folien dieser Vorlesung:
www.klichi.uni-muenster.de/folien.pdf
siehe auch [ELIA](#)

Dr. med. Michael Erren

Zentrale Einrichtung Labor

– UKM Labor –

Universitätsklinikum Münster

Albert-Schweitzer-Campus 1

48149 Münster

Tel.: 0251 83-48701

Fax: 0251 83-47225

erren@uni-muenster.de

www.klichi.uni-muenster.de



Wintersemester 2022/23

Entzündung

Definition:

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

- Reaktion lokal:

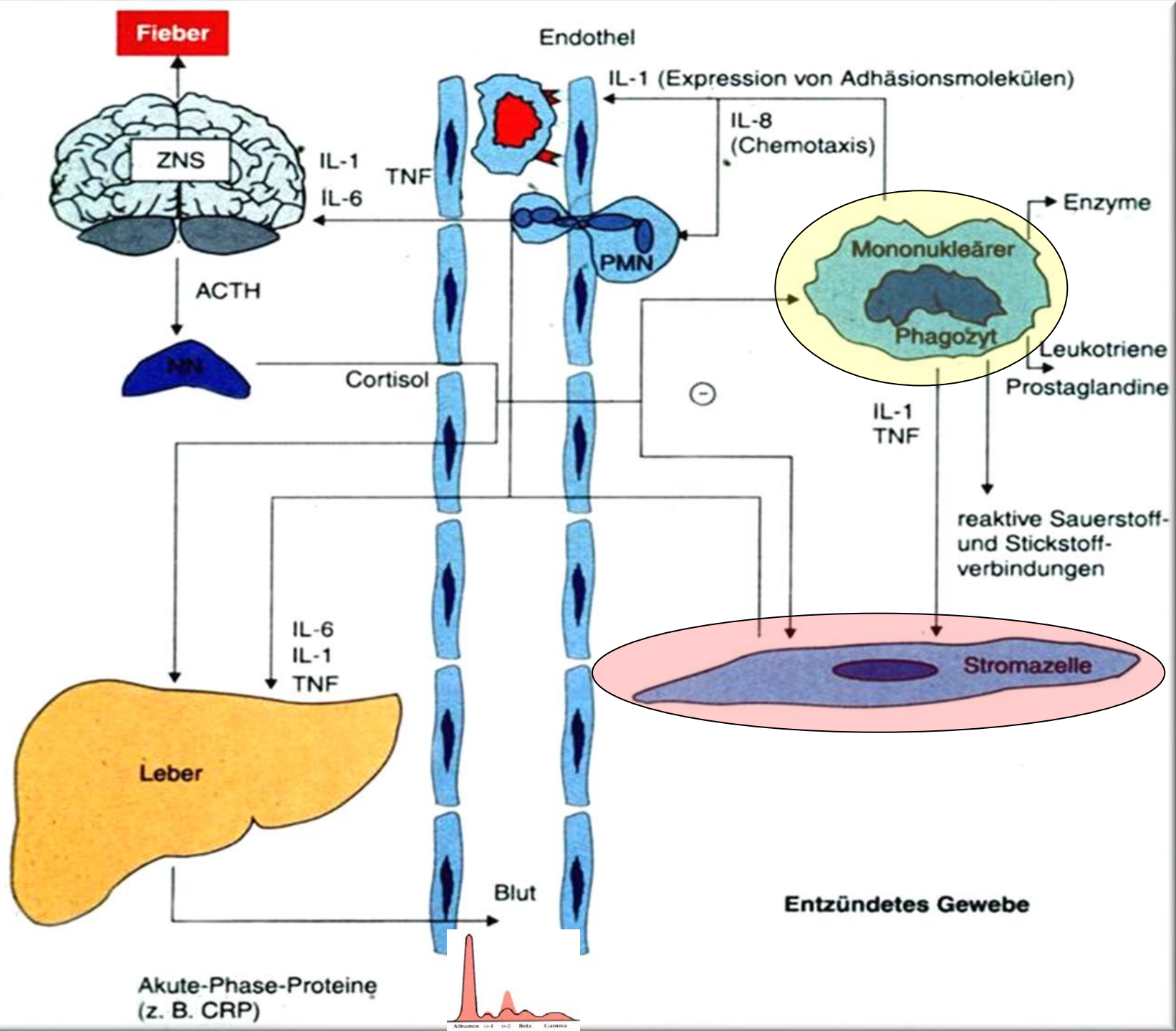
- Schmerz	Dolor
- Rötung	Rubor
- Erwärmung	Calor
- Schwellung	Tumor
- eingeschränkte Funktion	Functio laesa

- Reaktion systemisch:

- neurohumoral, metabolisch, immunologisch

Immunsystem

	Antigen-unspezifisch	Antigen-spezifisch
Humoral (lösliche Faktoren)	Zytokine (TNF, IL6, IL10) Akute-Phase-Proteine (CRP) Komplementsystem (C3, C4) Gerinnungssystem (Fibrinogen)	Antikörper - IgA - IgE - IgG - IgM - (IgD)
Zellulär	Granulozyten Monozyten/Makrophagen Natürliche Killer-Zellen (NK)	T-Lymphozyten (CD3) - T-Helfer (CD4) - T-Suppressor (CD3/CD8) B-Lymphozyten (CD19)



Diagnostische Parameter

1. Fieber
2. Blutsenkung (BSR)
3. Kleines und großes Blutbild
4. Durchflußzytometrie
5. Eiweißelektrophorese
6. Akute-Phase-Proteine (CRP, SAA)
7. Zytokine (IL6, TNF)
8. Procalcitonin (PCT), Lipopolysaccharide-binding Protein (LBP), Neopterin
9. Wirtsprotein-Signatur
10. Komplementfaktoren
11. Immunglobuline, spezifische Antikörper

Fieber

Phagozytose

(Bakterien, Fremdstoffe, Zelltrümmer)



Endogene Pyrogene (Zytokine)

Exogene Pyrogene (LPS, Peptidoglykan)

Granulozyten

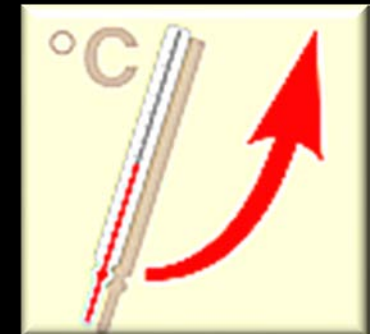
(akut)

Monozyten

(chronisch)



Temperatur-Sollwertverschiebung
im ZNS



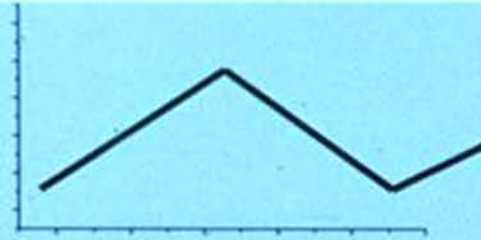
Fieber

- Anamnese
- CAVE: Kinder und Alte
- Messpunkte: Trommelfell > rektal > sublingual > axillar
- Herzfrequenz: Basis (70 / Min.) + 10 Herzschläge / Min. $\cong +1^{\circ}\text{C}$
- CAVE: Antiphlogistika / Antipyretika
- CAVE: kalte Sepsis
- Wichtige Grenzwerte: 37°C , $38,5^{\circ}\text{C}$, 42°C

Typische Tages-Fieberkurven

INTERMITTIEREND

37°C

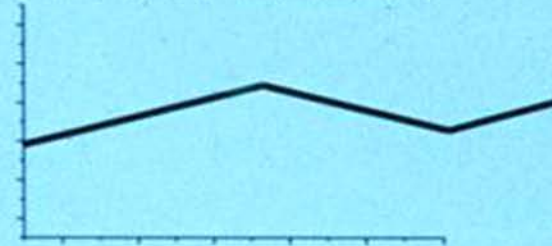


BEISPIELE

Pneumonie, Zystitis

REMITTIEREND

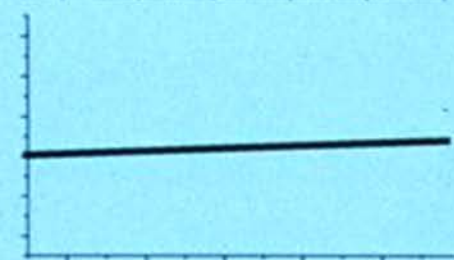
37°C



Eiterungen, TBC

KONSTANT

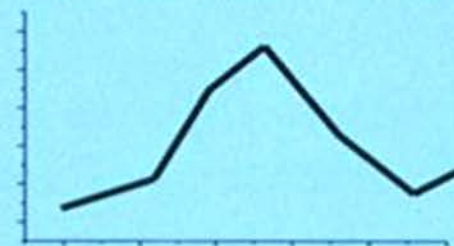
37°C



Krebs, ZNS-Erkrankungen
Bakterielle Endokarditis

**GEZACKT,
MEHRPHASISCH**

37°C



Malaria, Borreliose,
M. Hodgkin

Unklare Fieberzustände (> 1 Woche)

- 40% Infektionen
- 20% Autoimmunerkrankungen (Junge)
- 20% Neoplasien (Alte)
- 10% Verschiedene
Leber- & Darmerkrankungen, **!!! MEDIKAMENTE !!!**
- 10% ungeklärt

Blutsenkungsreaktion (BSR)

Dysproteinämie

Neutralisation (akut)

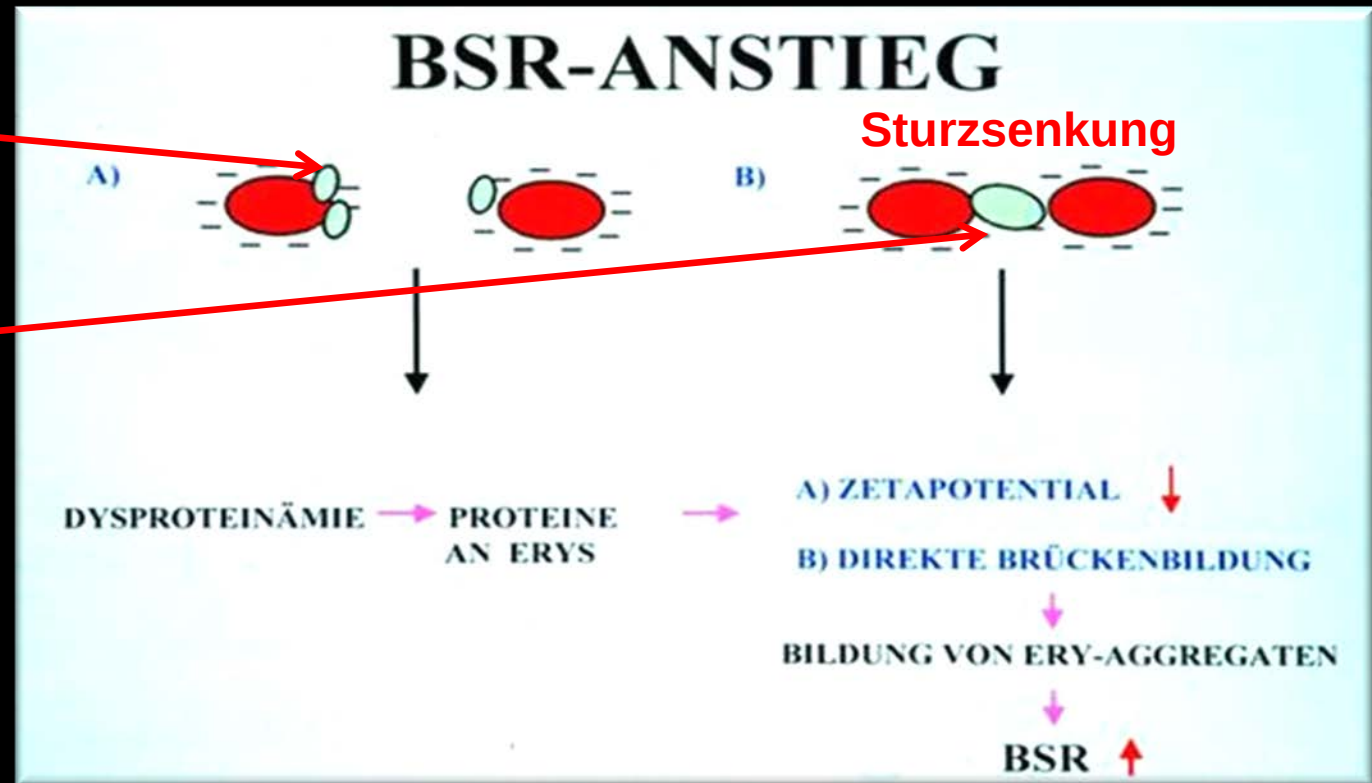
- $\alpha_{1/2}$ -Proteine

Brückenbildung (chronisch)

- Fibrinogen
- Immunglobuline (IgM)
- Immunkomplexe

Indikation: BSR vs. CRP

- **Lupus erythematoses**
- **Polymyalgia rheumatica**
- **Arteriitis temporalis**
- Neoplasien



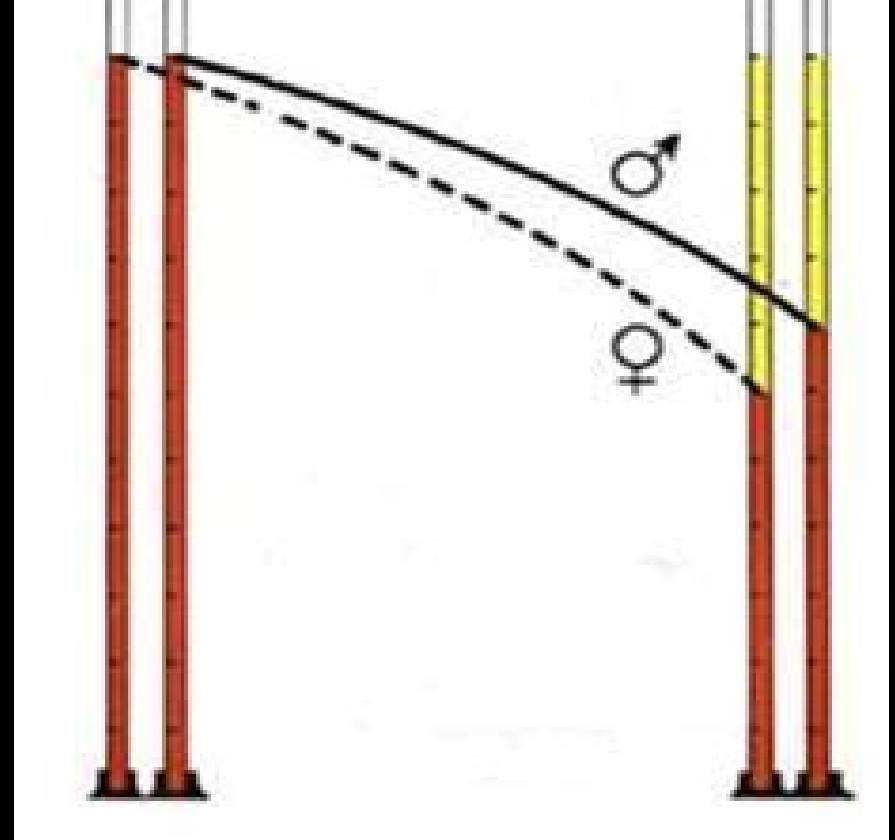


Ansatz

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

Fehlerquellen

- **Volumen- und Mischfehler**
- **Temperatur (18-21°C vs. 27°C)**
- Anämie ↑, Antiplogistika ↓



Referenzwerte

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

Leukozytose

(Granulozytose, Lymphozytose, Monozytose)

DD: LEUKOSE

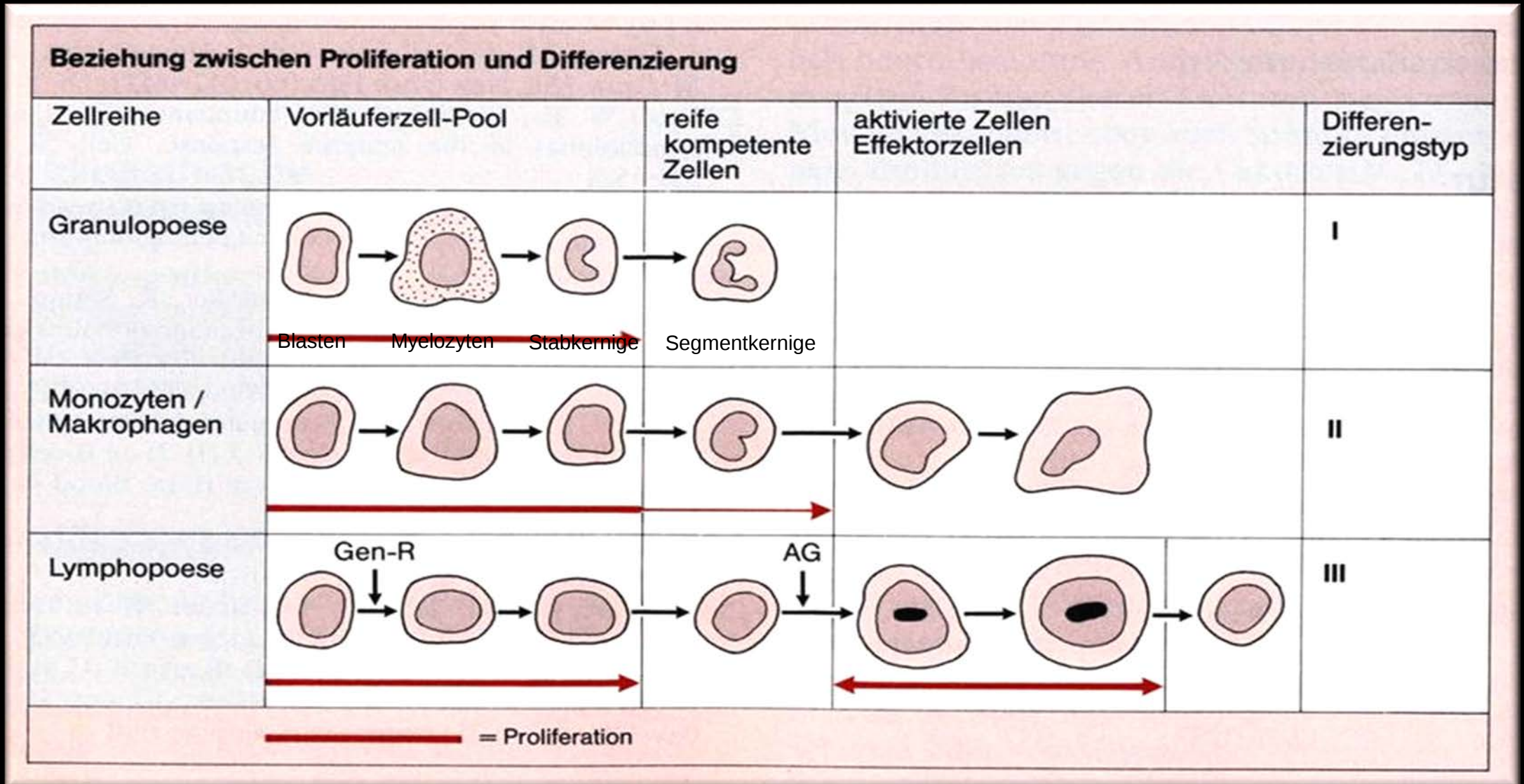
- Infektionen (lokal/systemisch)
- Nekrose (Trauma, OP, Myokard-Infarkt)
- Stoffwechselstörungen
(Gicht, Urämie, Azidose, Vergiftung)
- Tumoren
- Artefakte (*in vivo*):
Körperliche Belastung, Schreileukozytose
(Linksverschiebung wird vermisst)
- **Cave: Glucocorticoid-Therapie!**

Differential-Blutbild

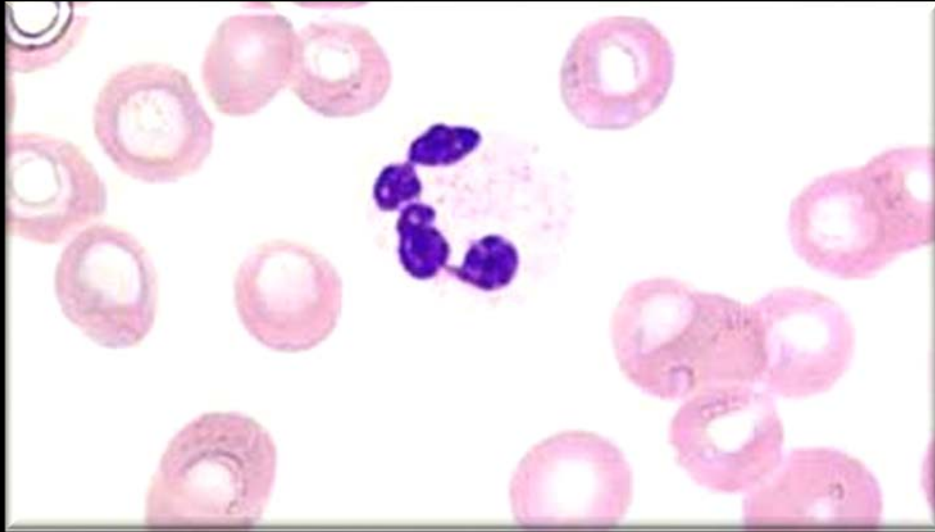
	Bakteriell	Viral	Steril	Allergisch	Chronisch
Neutrophile Granulozyten	(↑↑↑↑) cave: kalte Sepsis	(↑↓)	↑	(↑)	(↑)
Links- verschiebung	↑		(↑)		
Monozyten					↑
Lymphozyten		↑ (↓ _{CMV}) CTL, NK			
Eosinophile Granulozyten				↑ DD: Morgenröte der Genesung	

Linksverschiebung

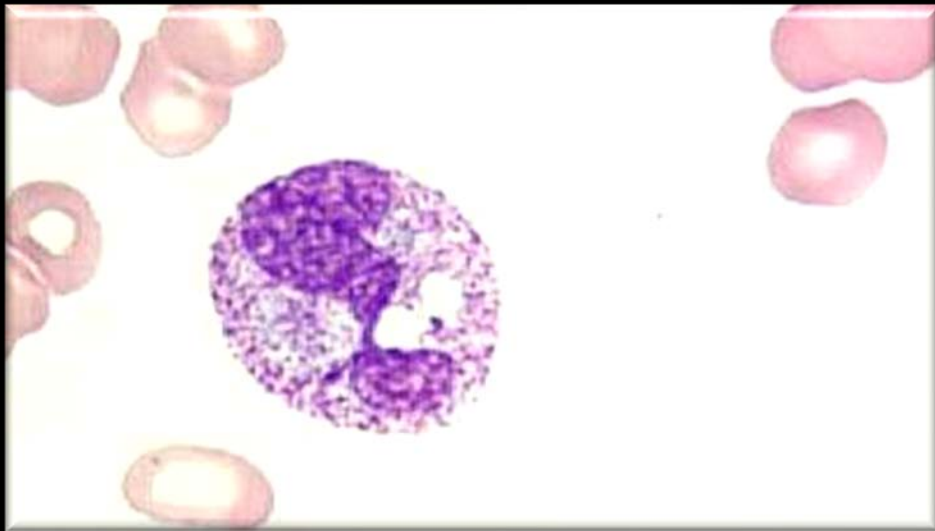
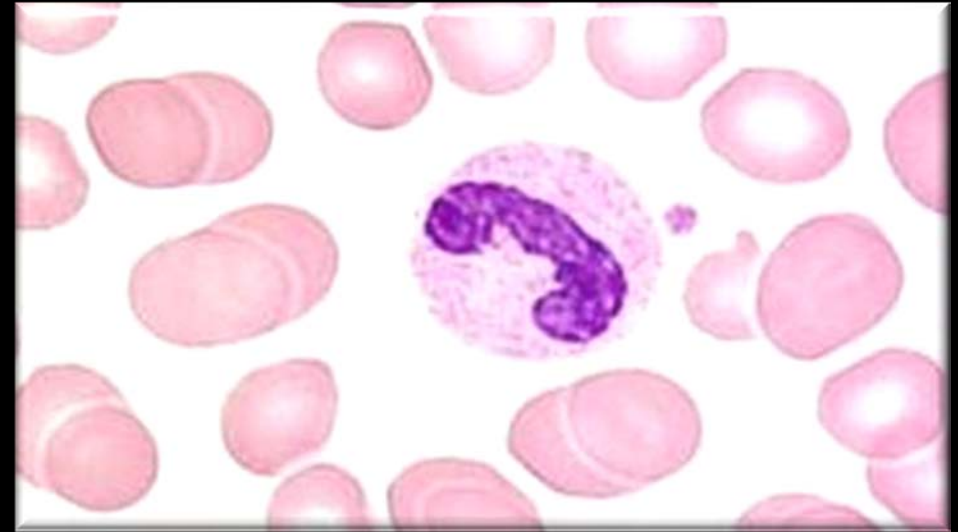
reaktiv vs. proliferativ



Segmentkerniger



Stabkerniger



Toxische Granula

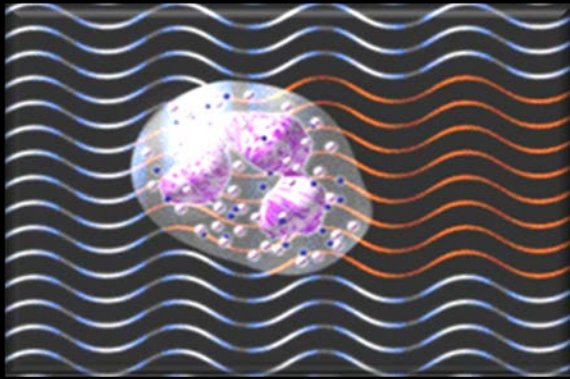


Döhle-Körperchen



Leukozyten-Differenzierungs-Kanal

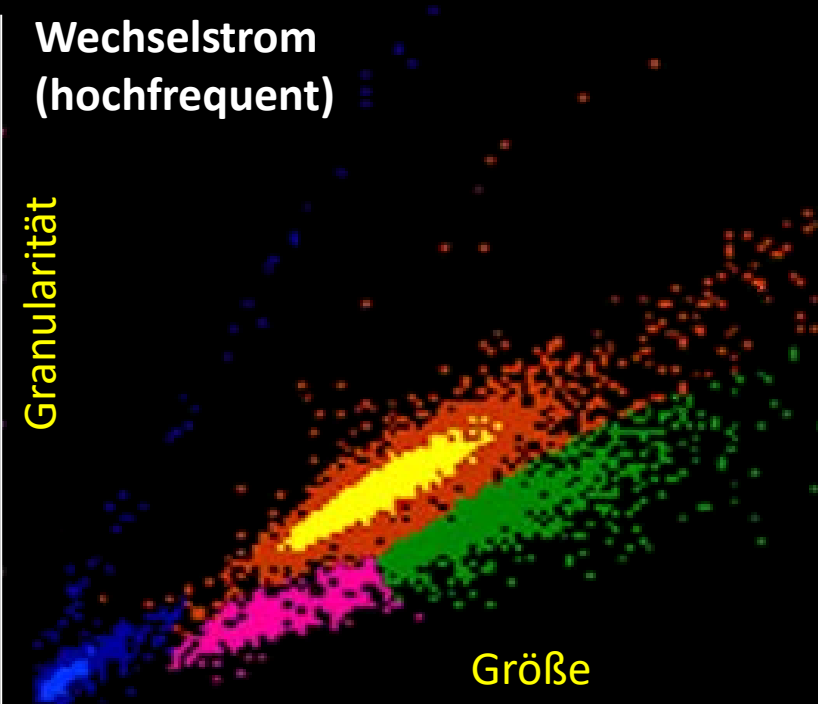
(AC/DC Widerstandsmeßprinzip)



Kern/Plasma-Verhältnis

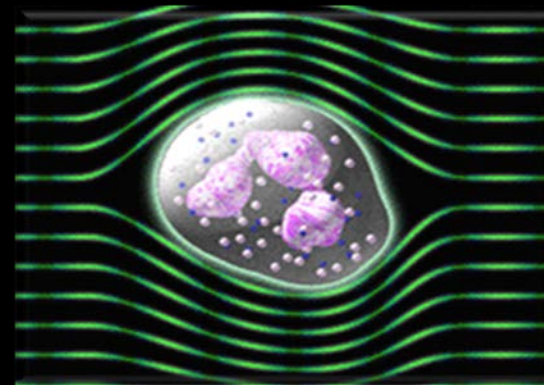
Wechselstrom
(hochfrequent)

Granularität



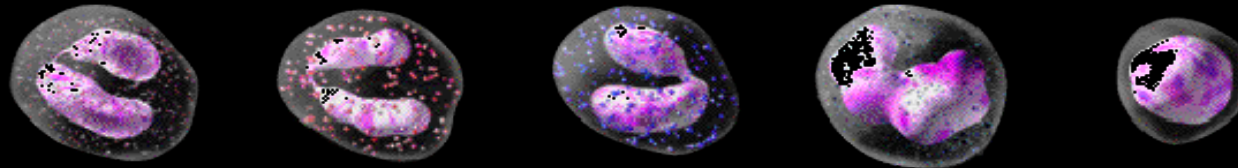
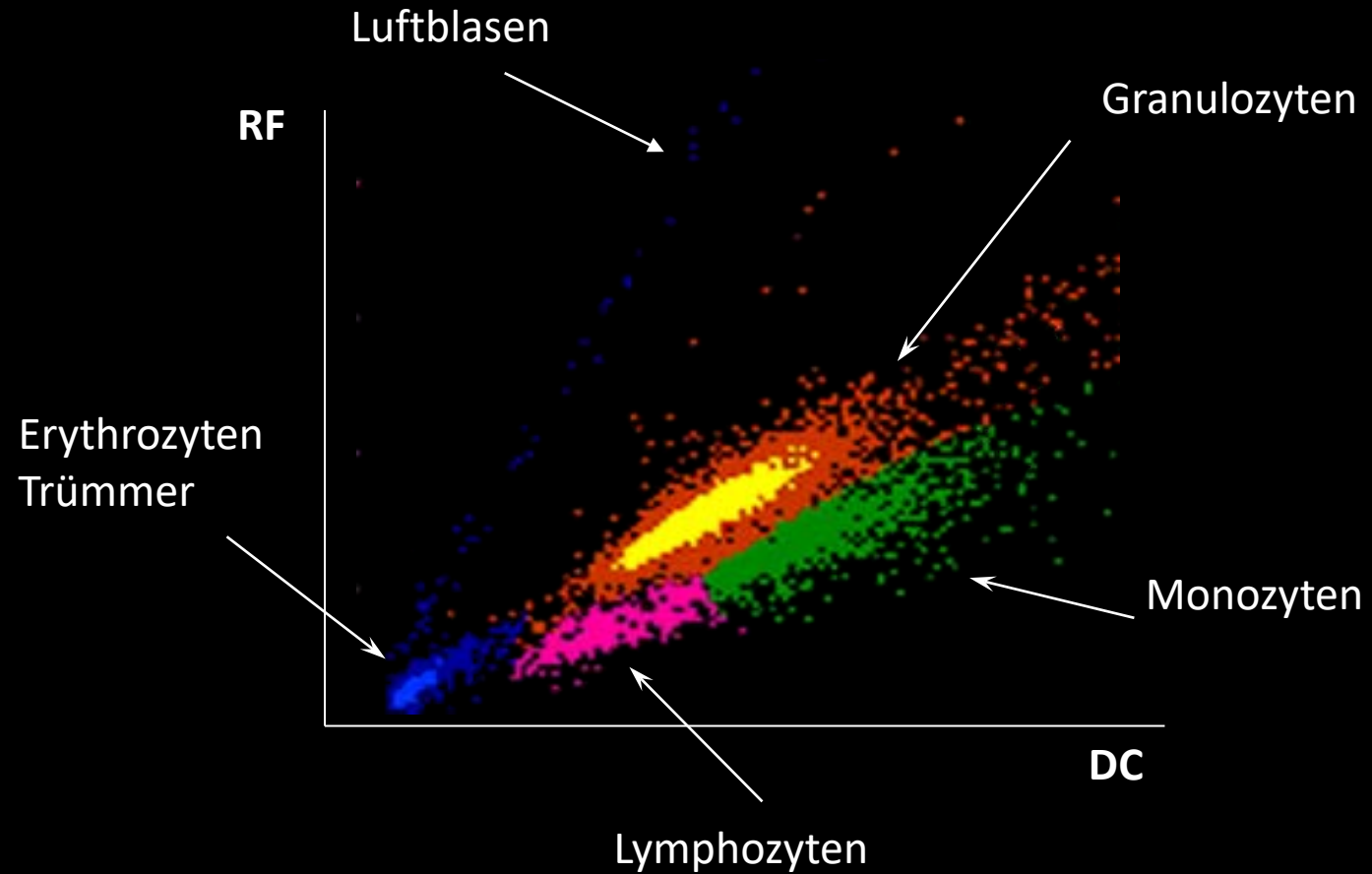
Größe

Gleichstrom



Zellvolumen

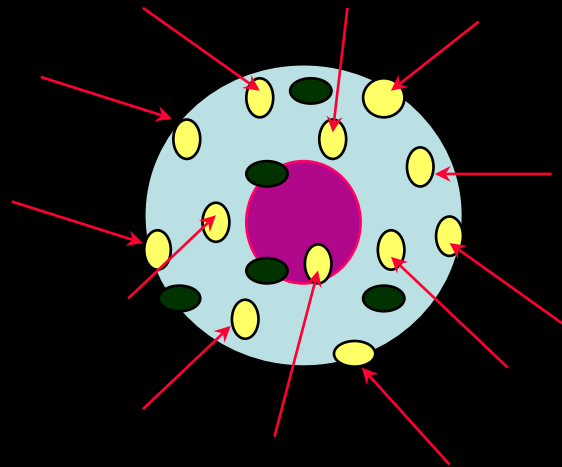
Leukozyten-Differenzierungs-Kanal



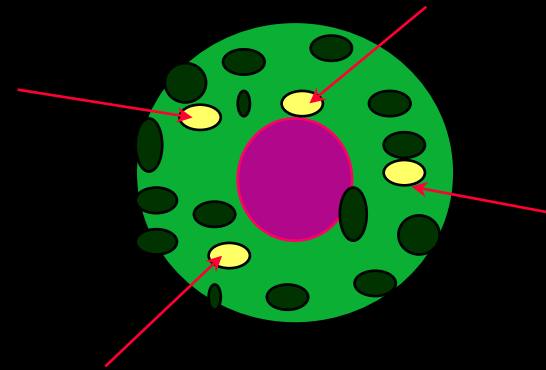
Prinzip der Reagenz-Wirkung im Immature-Myeloid-Information Kanal

- Proteine
- Apo-Lipoproteine
- ← Lyse-Reagenz

Reifer Leukozyt

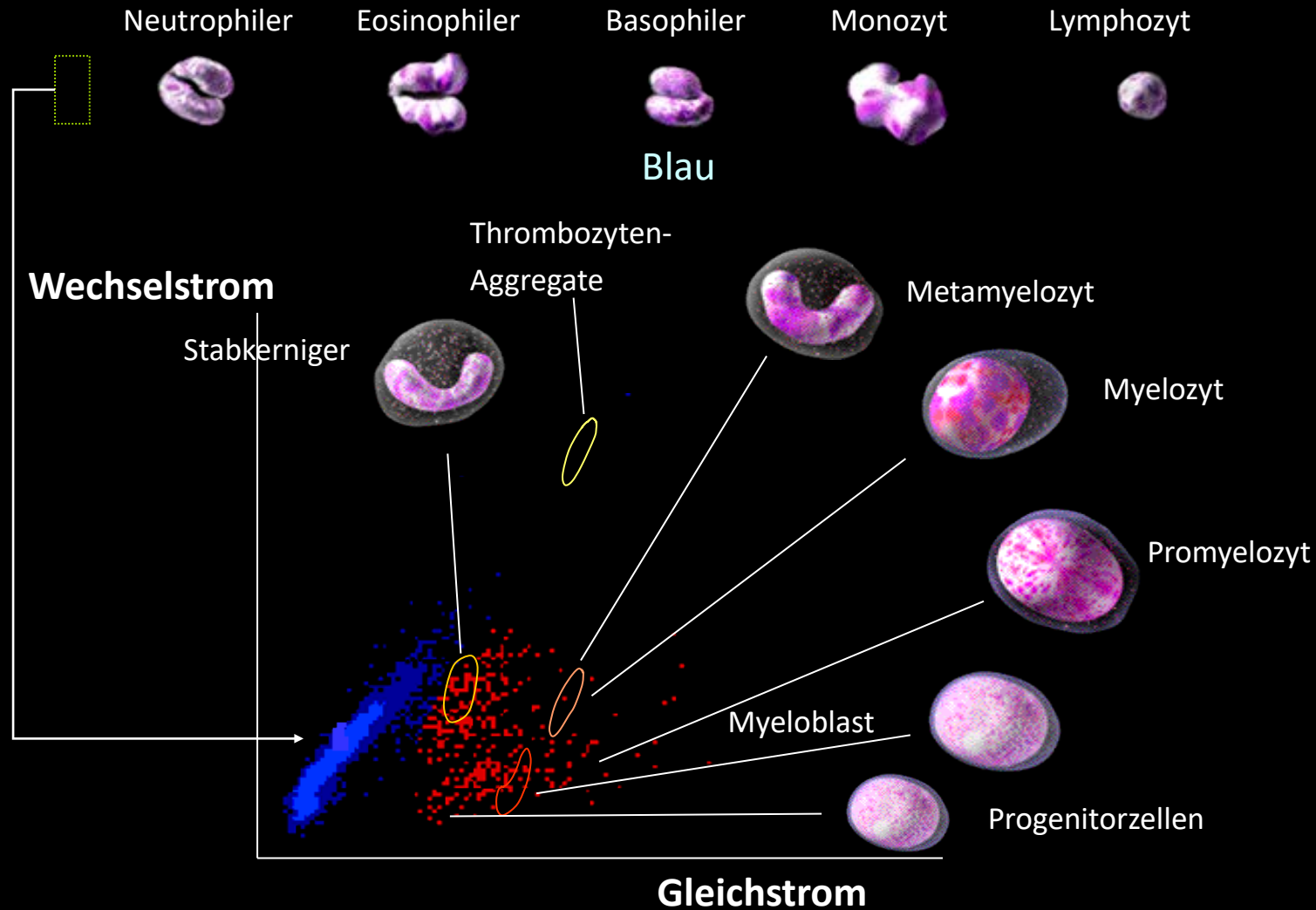


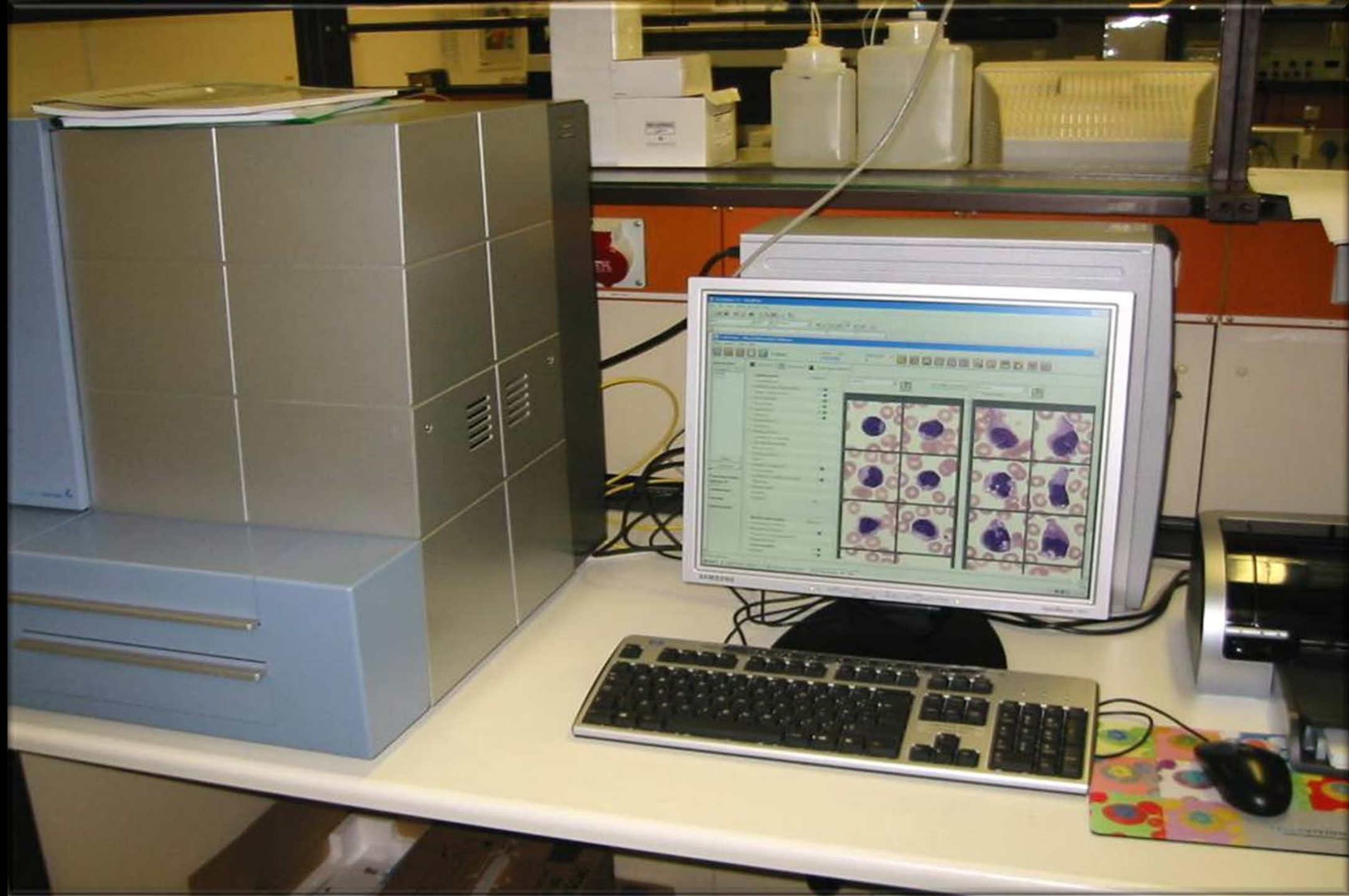
Unreifer Leukozyt



IMI-Kanal

Immature Myeloid Information (IMI)







Fehler

Auftrag: 713122

Objektträger: 1



Arbeitsliste

Auftrags-ID	0...
973098	1
713122	1

Leukozyten Erythrozyten Objektträger validieren

Leukozyten

Zählung

• Unidentifiziert	-
• Stöbkemiger Neutrophiler	10
• Segm. Neutrophiler	118
• Eosinophiler	2
• Basophiler	2
• Lymphozyt	45
• Monozyt	13
• Promyelozyt	-
• Myelozyt	-
• Metamyelozyt	-
• Unreifer Eosinophiler	-
• Unreifer Basophiler	-
• Promonozyt	-
• Prolymphozyt	-
• Blast	-
• Variant. Lymphozyt	3
• Plasmazelle	-
• Lymphozyt, große granuläre	2
• Haarzelle	-
• Sézary-Zelle	-
• Andere	-
• Gesamt	195

Nicht-Leukozyten

Zählung

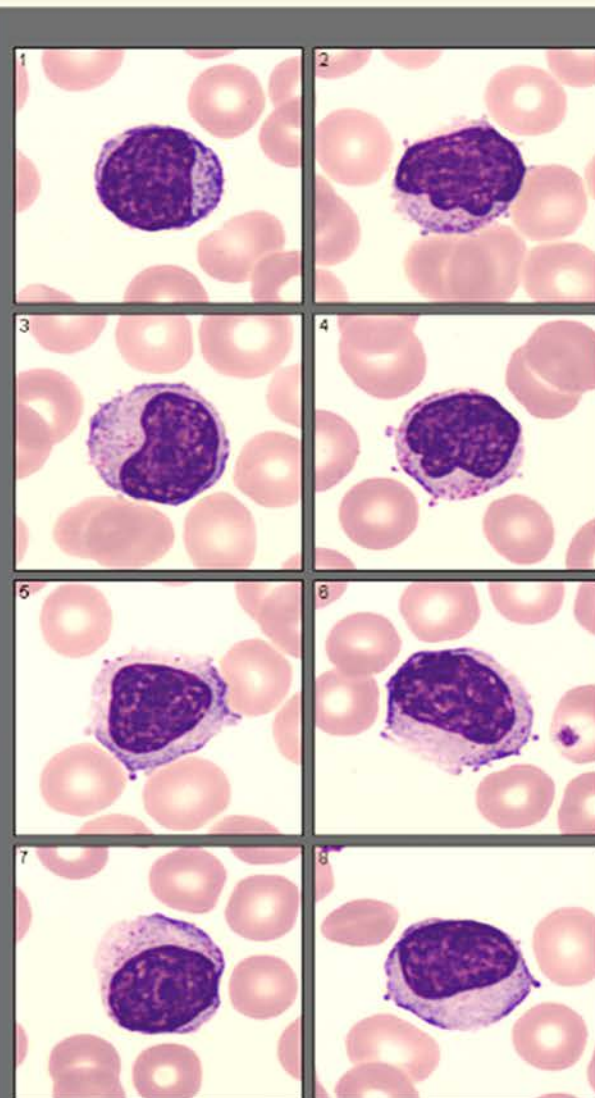
• Erythroblast (NRBC)	-
• Riesenthrombozyt	3
• Thrombozytenaggregation	-
• Megakaryozyt	-
• Kernschatten	24
• Artefakt	3

Nicht klassifiziert

Leukozytenanmerkung

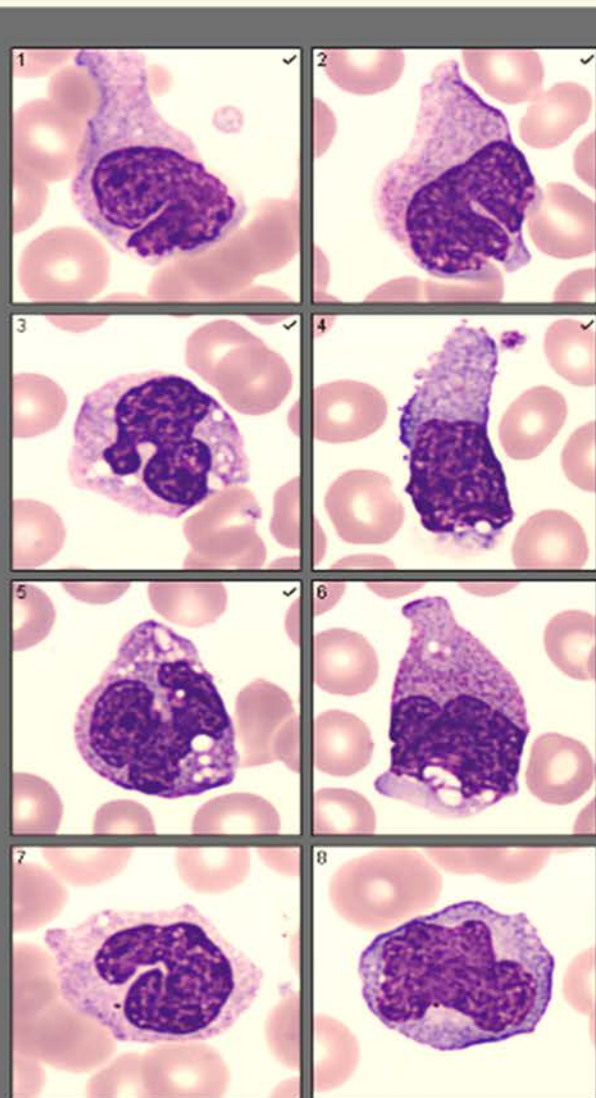
Lymphozyt

Ref.-Zellen in Ansicht 2



Monozyt

Referenzzellen



Öffnen

Entfernen

Patientendaten

Auftrags-ID:

713122

Familienname:

Vorname:

Geburtsdatum:

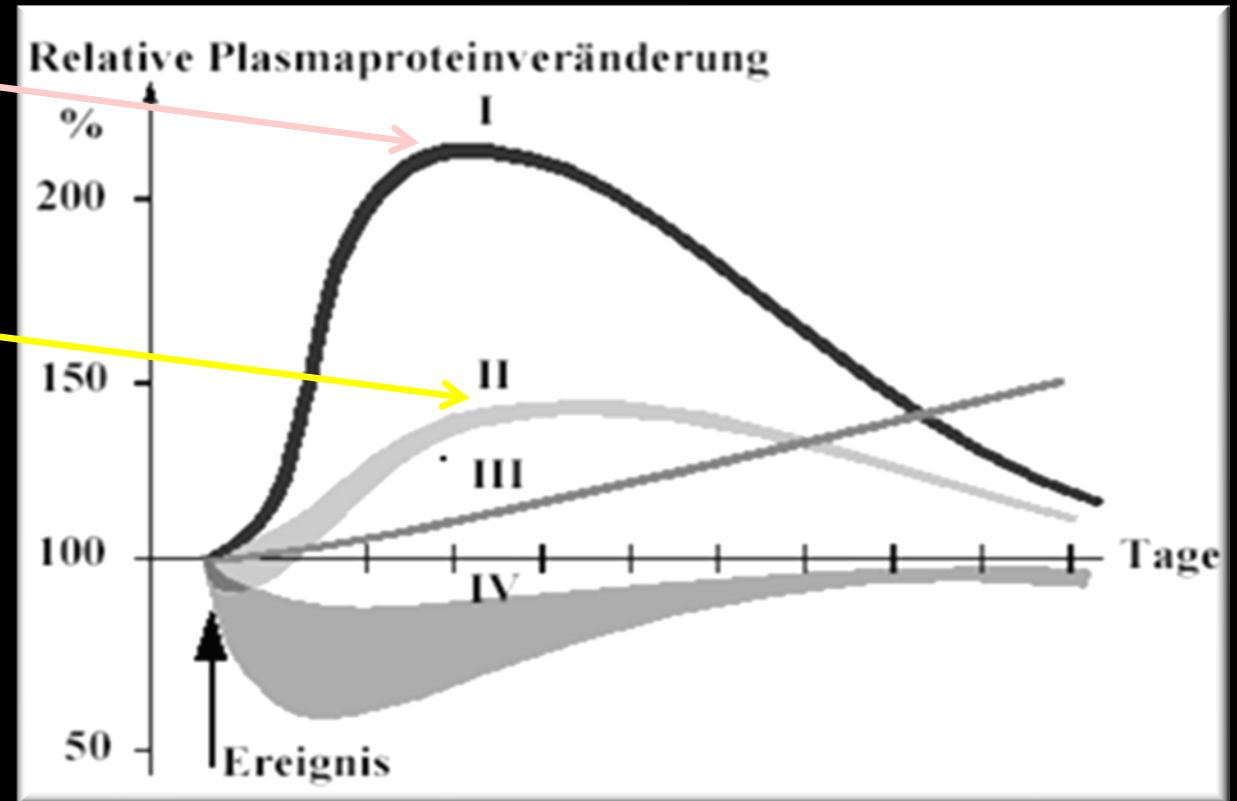
Positive + Negative Akute-Phase-Proteine

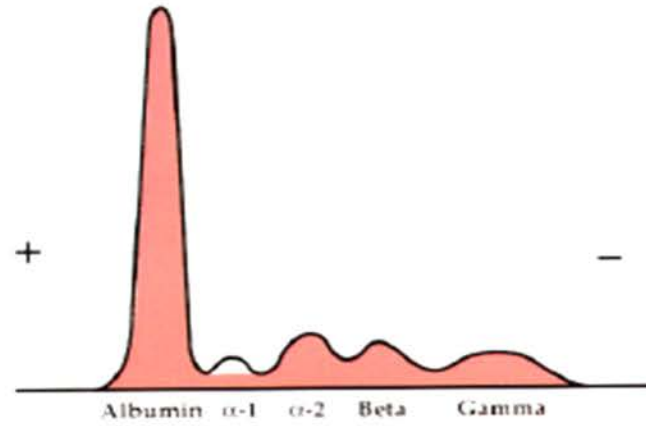
I. Akute-Phase-Proteine
- C-reaktives Protein (CRP)
- Serum-Amyloid A (SAA)

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

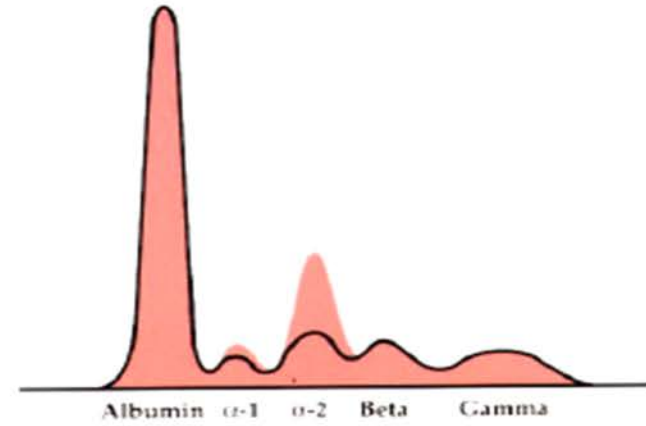
III. Immunglobuline

IV. Transportproteine
- Albumin

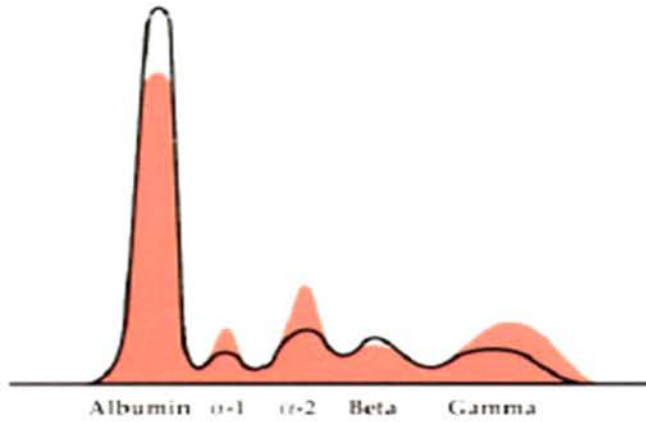




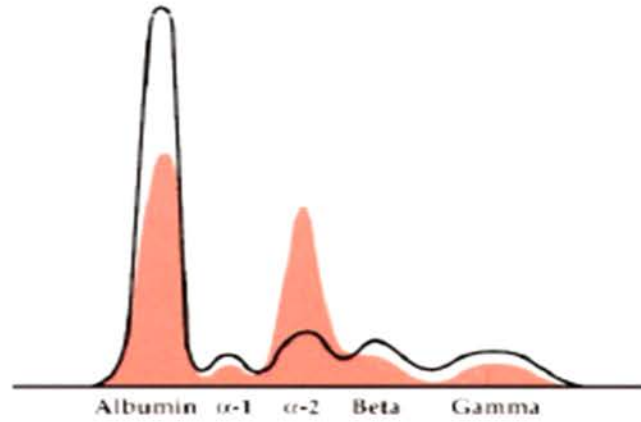
Alpha-1 Antitrypsin-Mangel



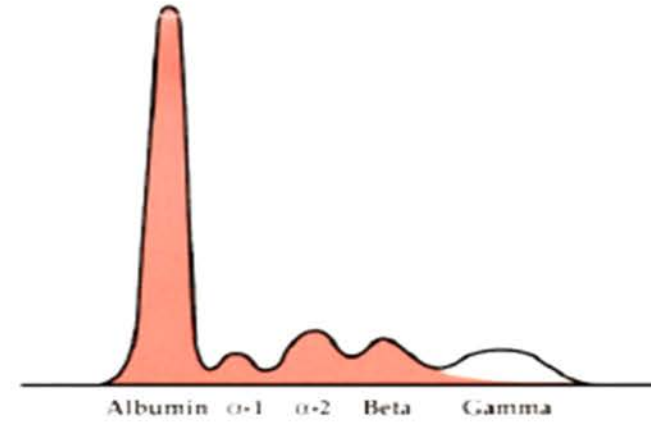
Akute Entzündung



Chronische Entzündung



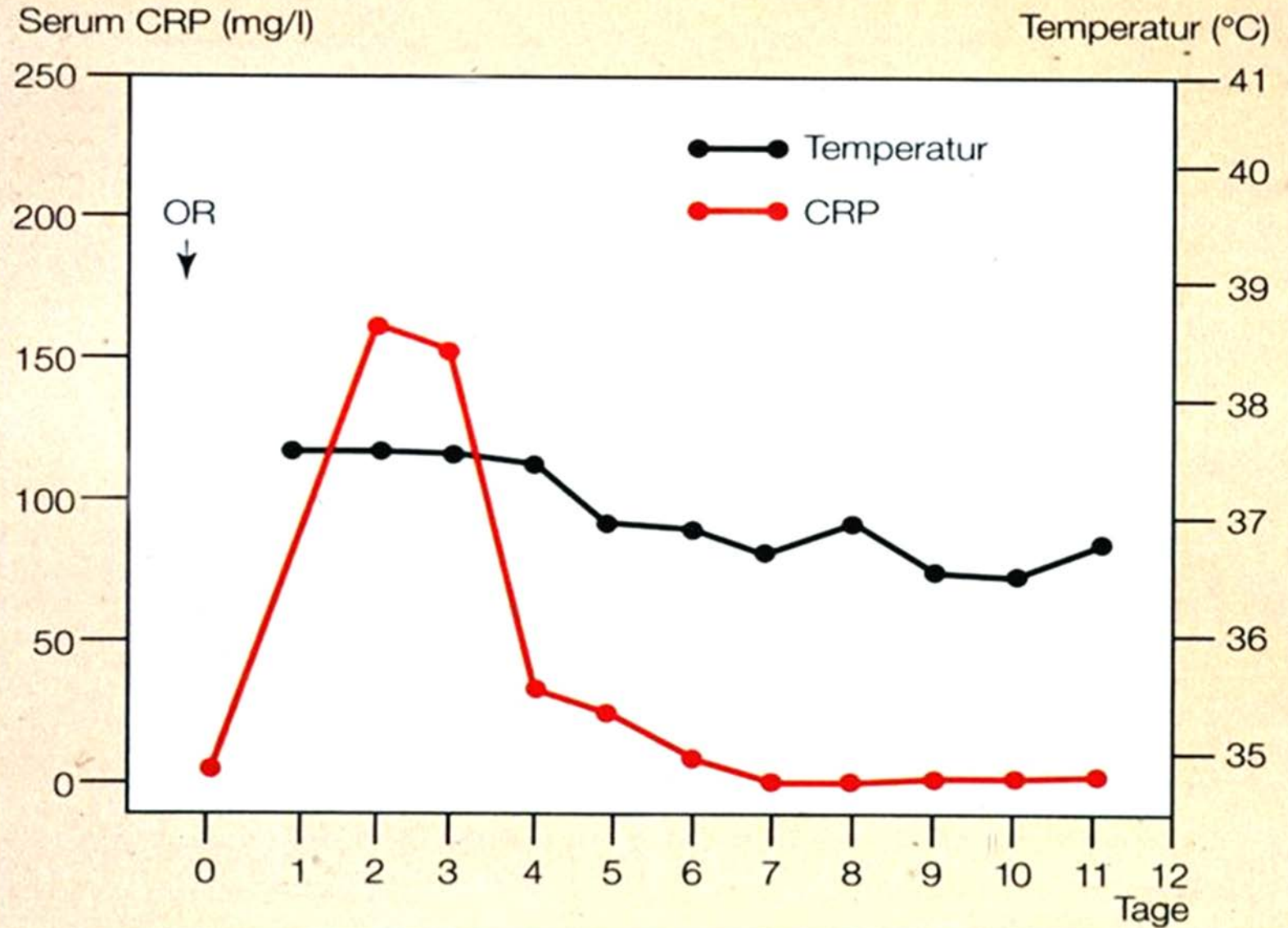
Nephrotisches Syndrom



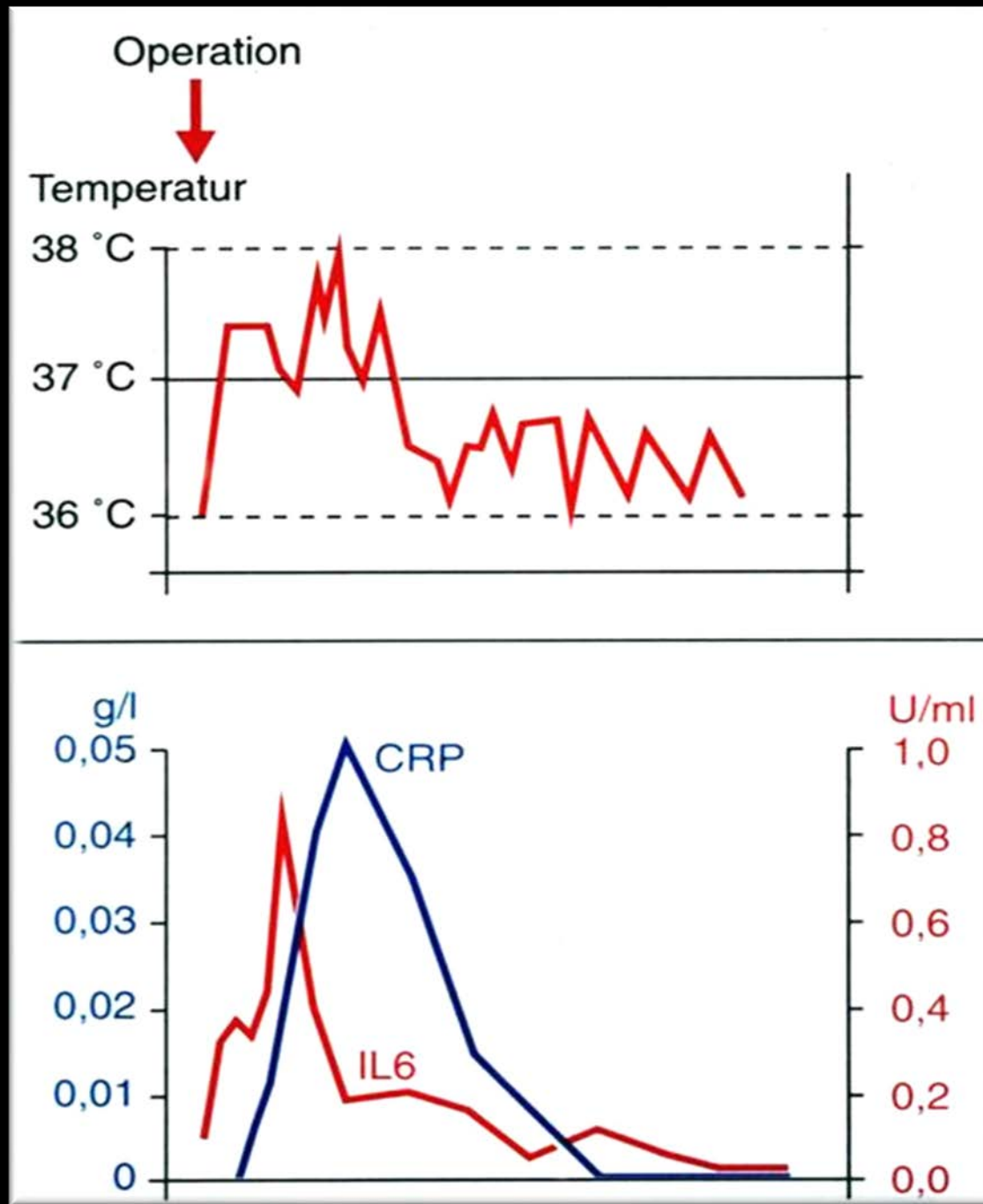
Hypogammaglobulinämie

Kolonresektion I

Verlaufsbeurteilung eines Patienten nach operativer Kolonresektion (OR)

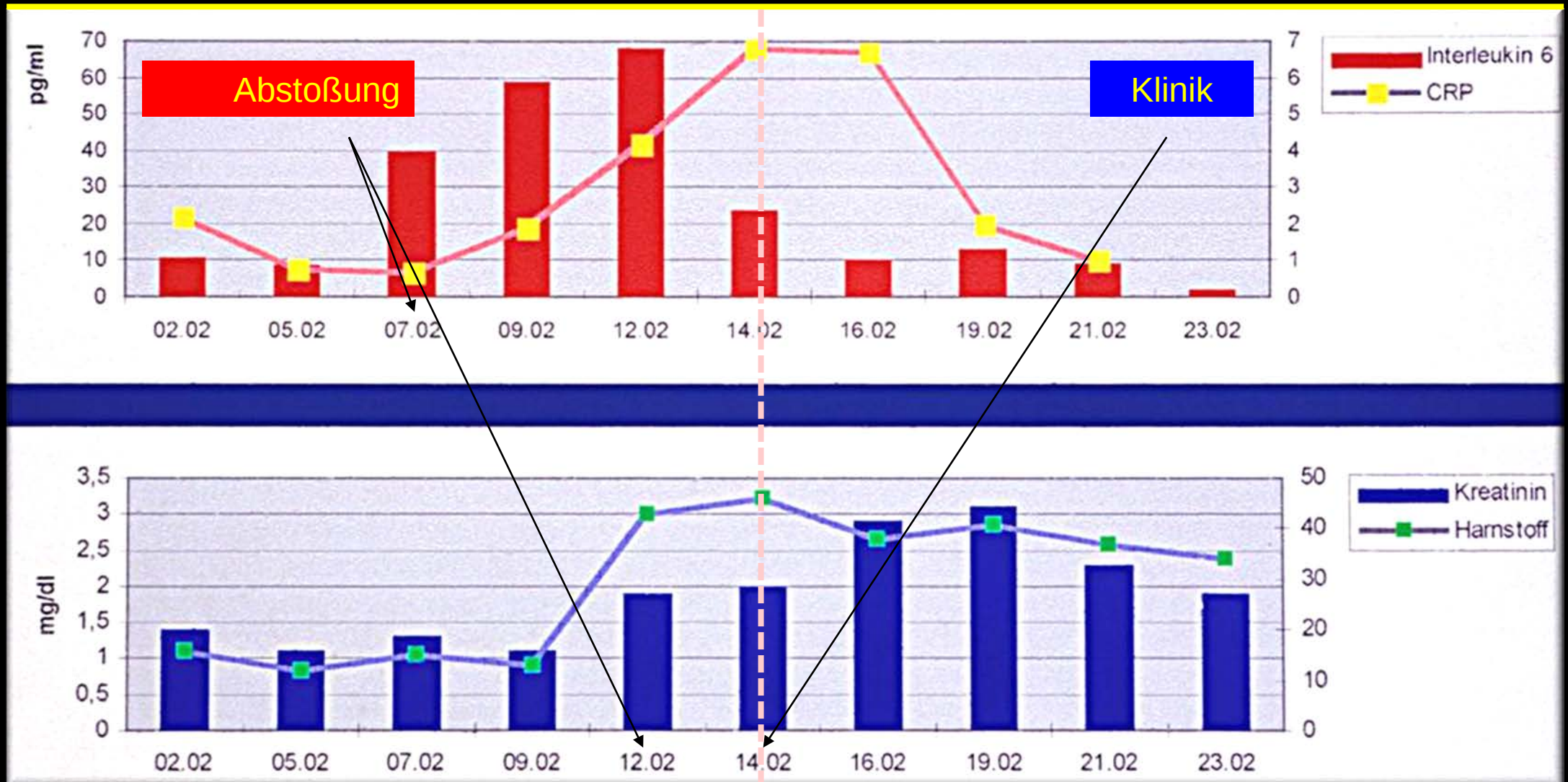


Kolonresektion II



Abstoßung nach Nierentransplantation:

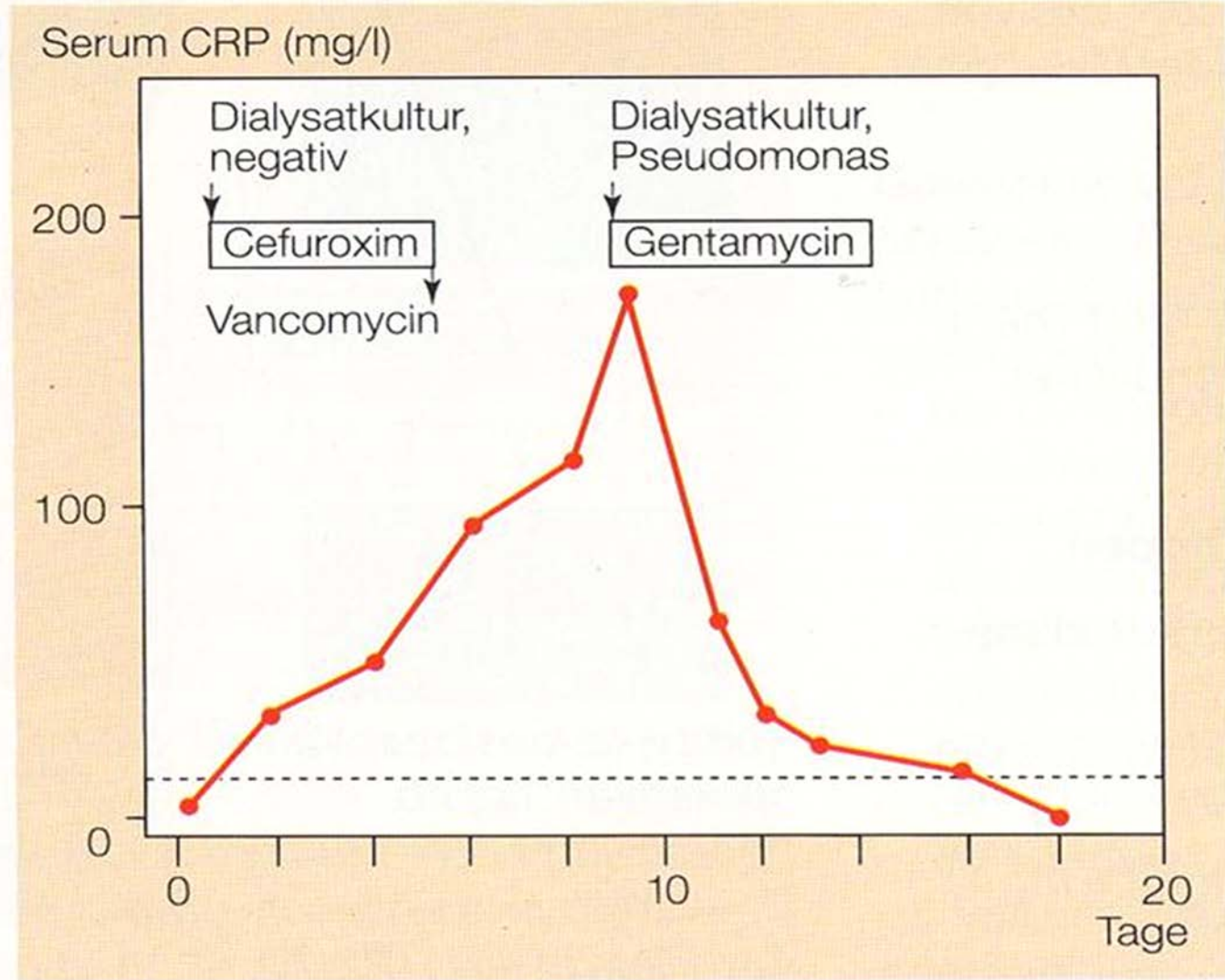
Immunologische Parameter als Frühindikatoren



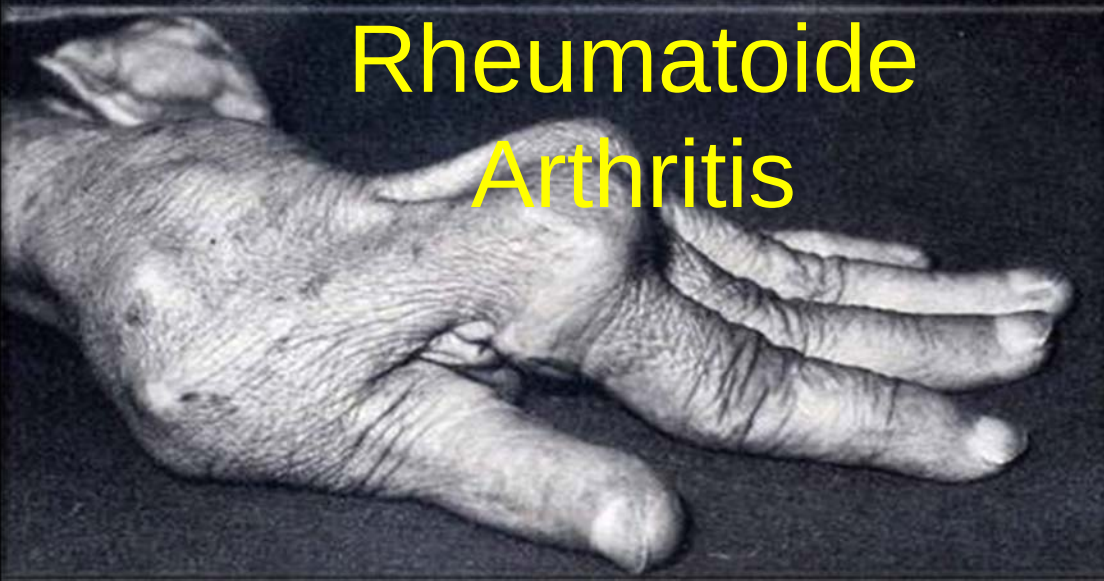
Fieber
Schmerz
Anurie

- Sensitivität hoch
- Spezifität niedrig

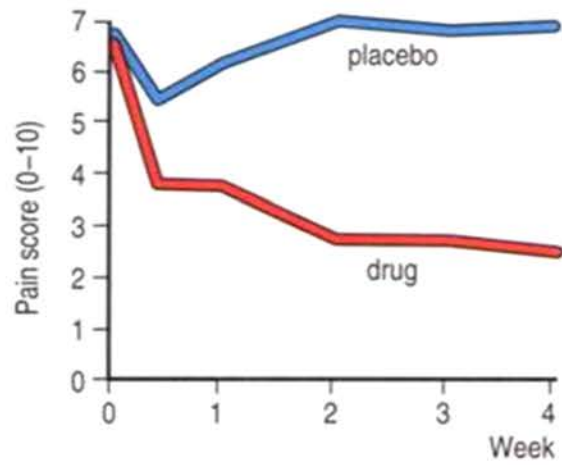
Infektion bei ambulanter Peritonealdialyse



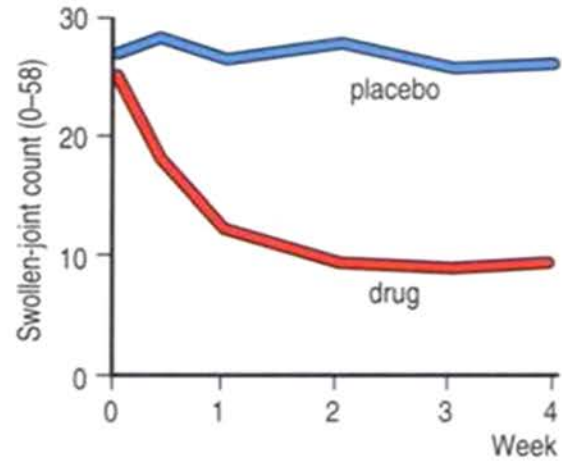
Rheumatoide Arthritis



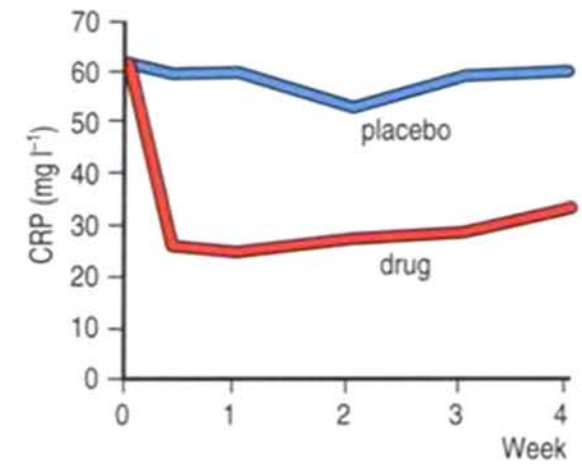
Subjective pain score



Swollen-joint count



C-reactive protein (CRP)





Neonatologie

– Amnion-Infekt-Syndrom (AIS)

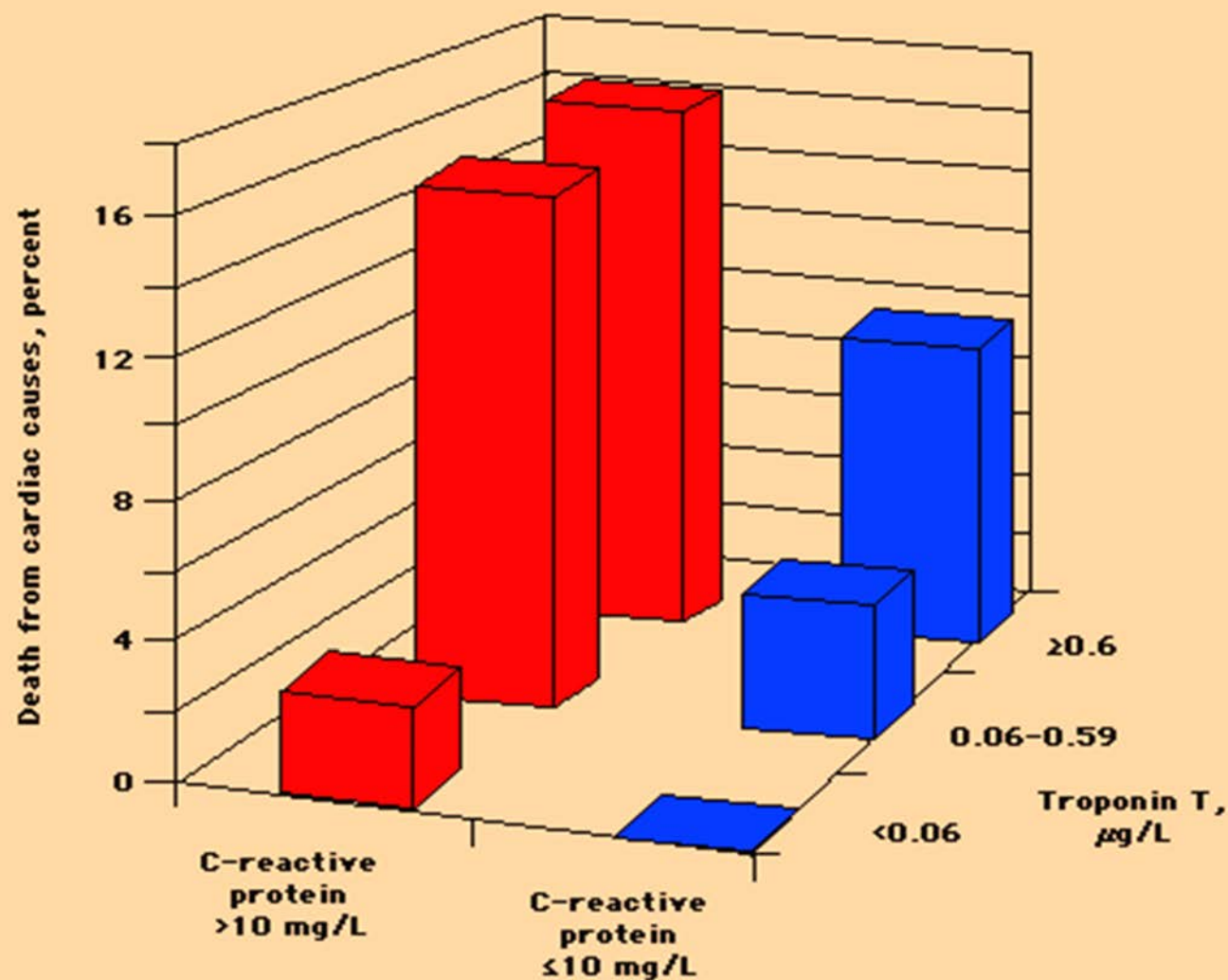
- Klinik:
Vorzeitiger Blasensprung,
fetale + mütterliche Tachykardie,
weicher Uterus,
Fieber, Leukozytose
- Entscheidungsgrenze:
CRP > 20 mg/l
IL6 > 10 ng/l



Pädiatrie

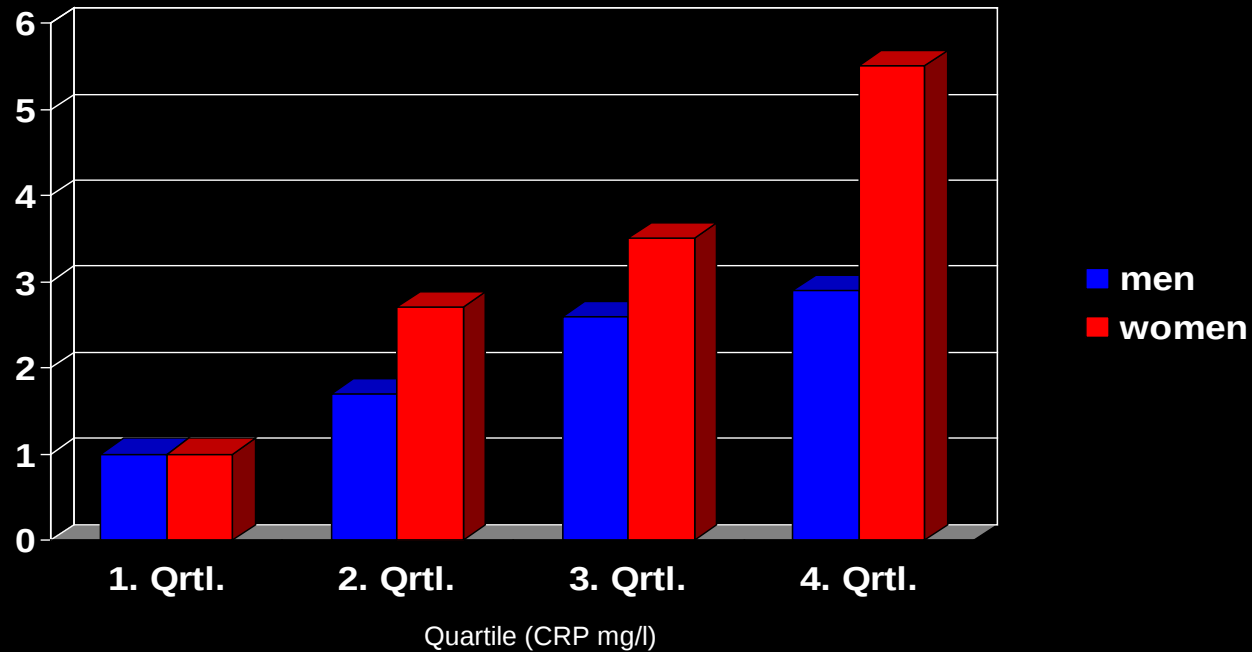
– Frühgeborenen-Sepsis

- Klinik
Neutropenie + Linksverschiebung, Thrombopenie
- **DD: fetale Asphyxie, Mekonium-Aspiration, zerebrale Blutung, kardio-vaskulärer Schock**
- Entscheidungsgrenze:
CRP > 10 mg/l
IL6 / IL8 > 10 ng/l
TNF- α > 10 ng/l



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



Grenzwert: < 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

INFEKTIONSMARKER

Systemische Infektion

- Gramnegative Bakterien
> 100 ng/ml
- Grampositive 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

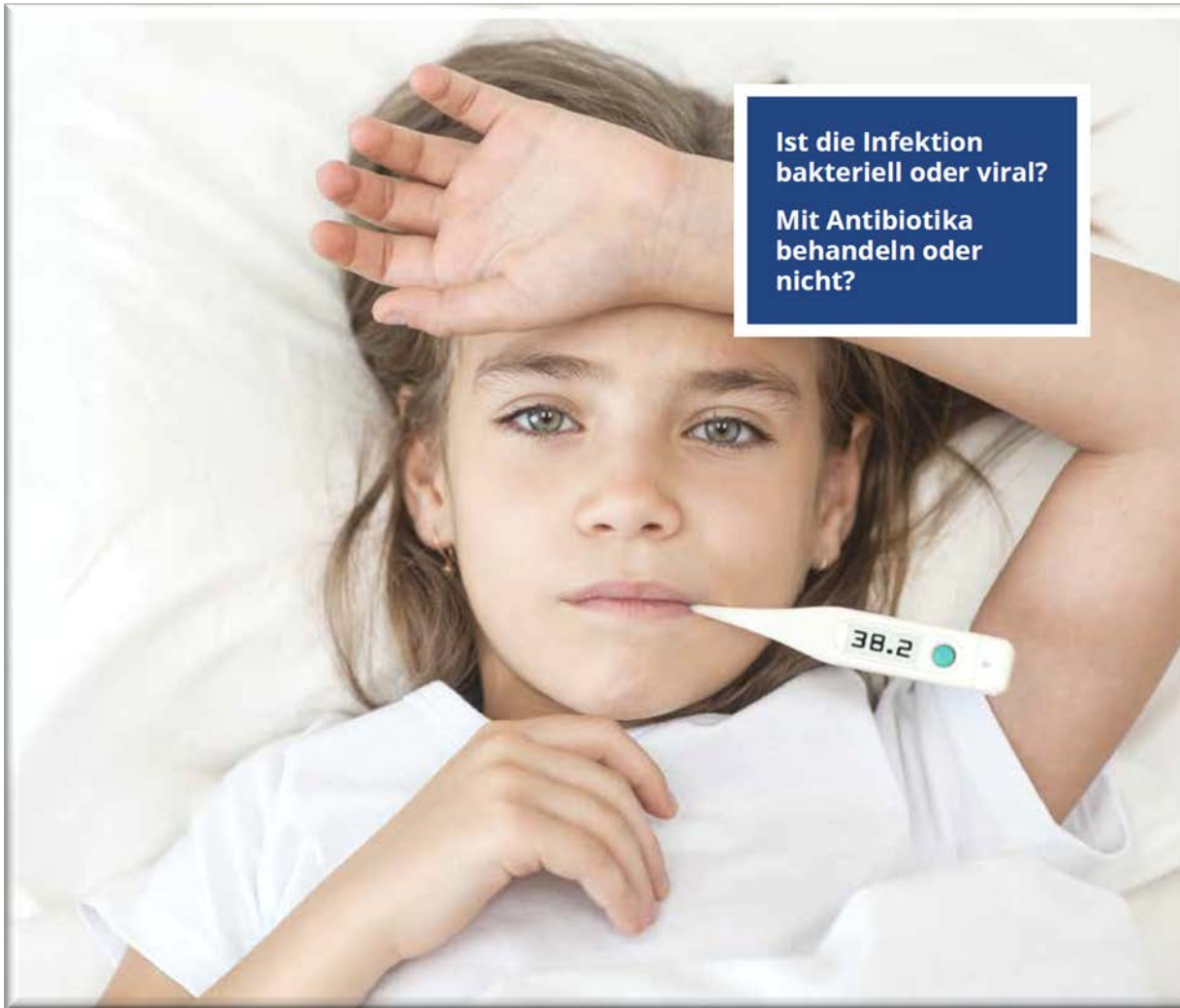
- Abnahmezeitpunkt jederzeit
- Volumen klein
- Spezialgefäße,
Transport & Lagerung unproblematisch
- Keine Kontamination
- Auch gekapselte Prozesse (Abszess)
- Schnelles Ergebnis (2 Std.)
- **!!! Quantitatives Ergebnis !!!**
- Preiswert

Nachteile

- **Keine Keimidentifizierung**
- **Kein Antibiogramm**

Host-Proteom Signature

Virale vs. bakterielle Infektion



Antibiotika sind die
am häufigsten falsch
eingesetzten Arzneimittel:



Übermäßiger
Antibiotika-
einsatz ⁽¹⁻⁴⁾



Unzureichender
Antibiotika-
einsatz ⁽⁵⁻⁷⁾

Host-Proteom Signature

Virale vs. bakterielle Infektion

Nachteile direkter Erregernachweis

- o Lange mikrobiologische Untersuchungszeit (Stunden bis Tage)
- o Infektionsort schwer zugänglich (z. B. Lungenentzündung) oder unbekannt (z. B. Fieber unklarer Genese)
- o Nachgewiesenes Bakterium Krankheitserreger oder nur Besiedler ohne Krankheitswert?
- o Nachweis eines Virus schließt nicht aus, dass unentdeckte Bakterien Ursache der Grunderkrankung sind (Mischinfektion mit sowohl Viren als auch Bakterien)

Vorteile indirekter Erregernachweis

Überwachung der Immunantwort des Wirts auf eine Infektion, durch Messung von im Blut zirkulierenden Wirtsproteinen (oder RNAs):

- o C-reaktives Protein (CRP), Serum-Amyloid A (SAA)
- o Interleukin 6 (IL6), Interleukin 8 (IL8)
- o Procalcitonin (PCT)
- o Kombinationen traditioneller Proteine (Protein-Signatur)
- o Kombination neuer und traditioneller Proteinen, die an verschiedenen Signalwegen teilnehmen (Protein-Signatur)

Wirtsprotein-Screening und Signaturentwicklung

- o Phase I: Systematische Literatur- und Bioinformatikrecherche zur Identifizierung von 600 Proteinen, die als Reaktion auf eine Infektion unterschiedlich exprimiert werden
- o Phase II: Nach Vortestung Einengung auf 86 Wirtproteine, mit statistisch signifikant differentieller Expression
- o Phase III: Fokussierung auf 17 Kandidatenproteine
- o Ergebnis: Aussagekräftigste Signatur – TRAIL, IP10 und CRP

Host-Proteom Signature

Virale vs. bakterielle Infektion

Training-set

Validation-set

Protein screening
phase A

Protein screening
phase B

Selecting protein
combination and model
construction

Signature
(logistic regression)

Performance
analysis

20 patients

100 patients

207 patients

600 proteins

86 proteins

17 proteins

Filter:
RS
 $P < 10^{-2}$

Filter:
T-test
 $P < 10^{-3}$

Z-score
<-1.5 -1 -0.5 0 0.5 1 >1.5

Bacterial patients

Viral patients

IL1RA
CCL19
CRP
SAA
CHI3L1
IP-10
Eotaxin
BCA-1
MCP-2
sVEGFR2
TRAIL
VEGFR2
MAC2BP
IFIT3
RSAD2
OAS2
MX1

TRAIL

IP-10

CRP

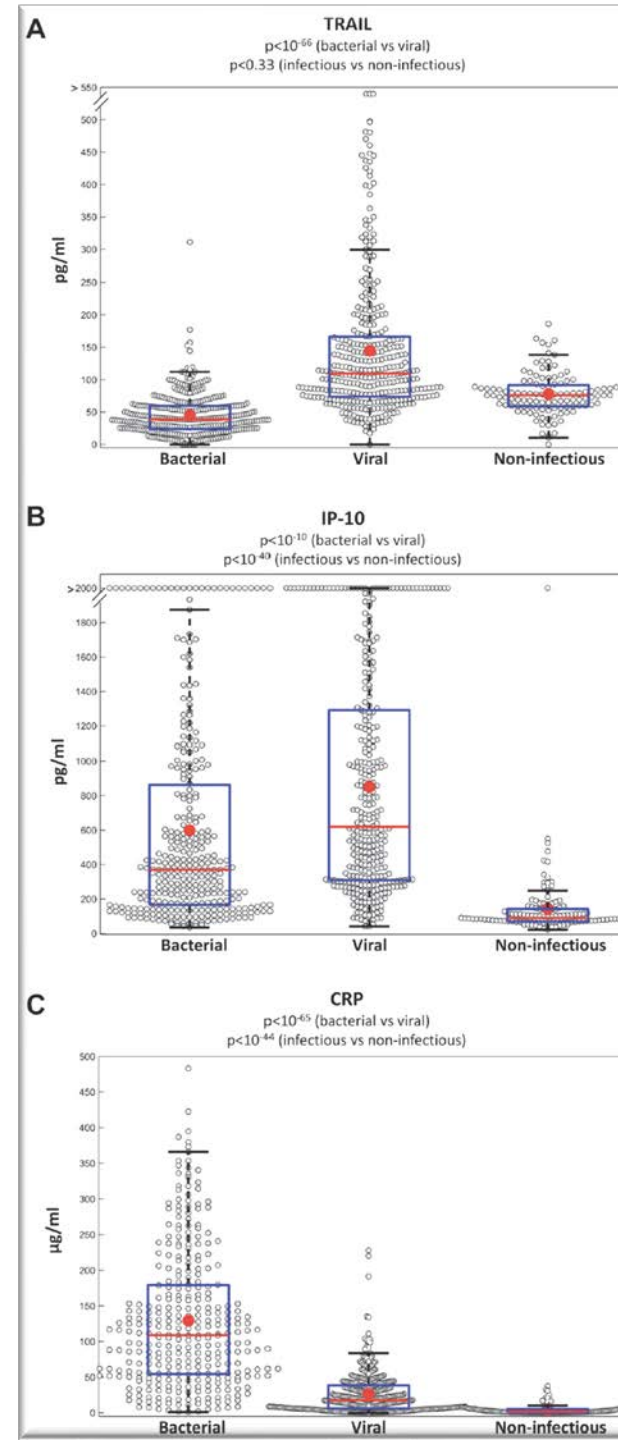
Likelihood
of bacterial
infection

AUC
Sensitivity
Specificity
PPV
NPV
LR+
LR-
DOR

Host-Proteom Signature

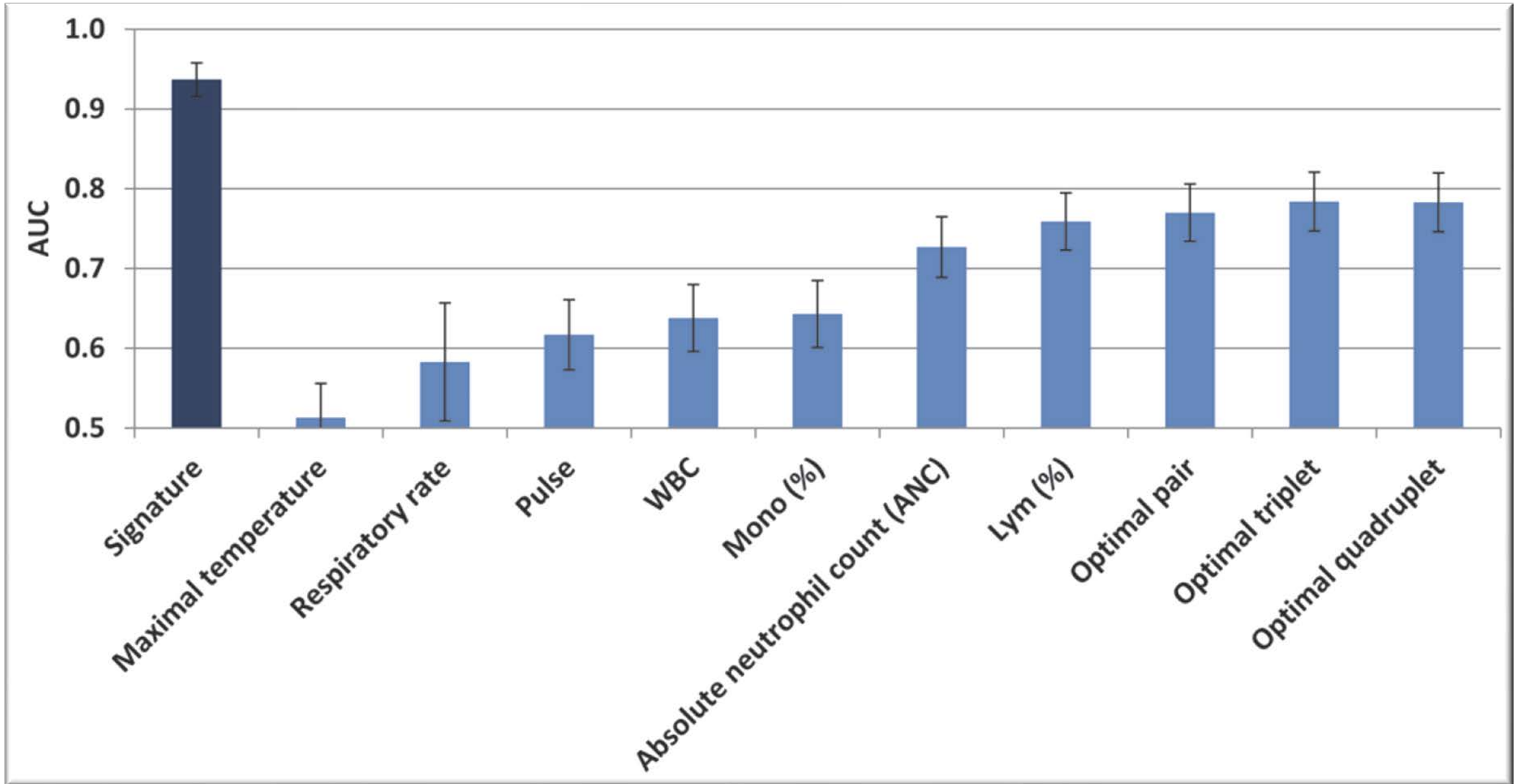
Virale vs. bakterielle Infektion

- o **TRAIL**: **T**NF-**r**elated **a**poptosis-**i**nducing **l**igand
- o **IP-10**: **I**nterferon-gamma-induced **p**rotein-**10**
- o **CRP**: **C**-**r**eaktives **P**rotein



Host-Proteom Signature

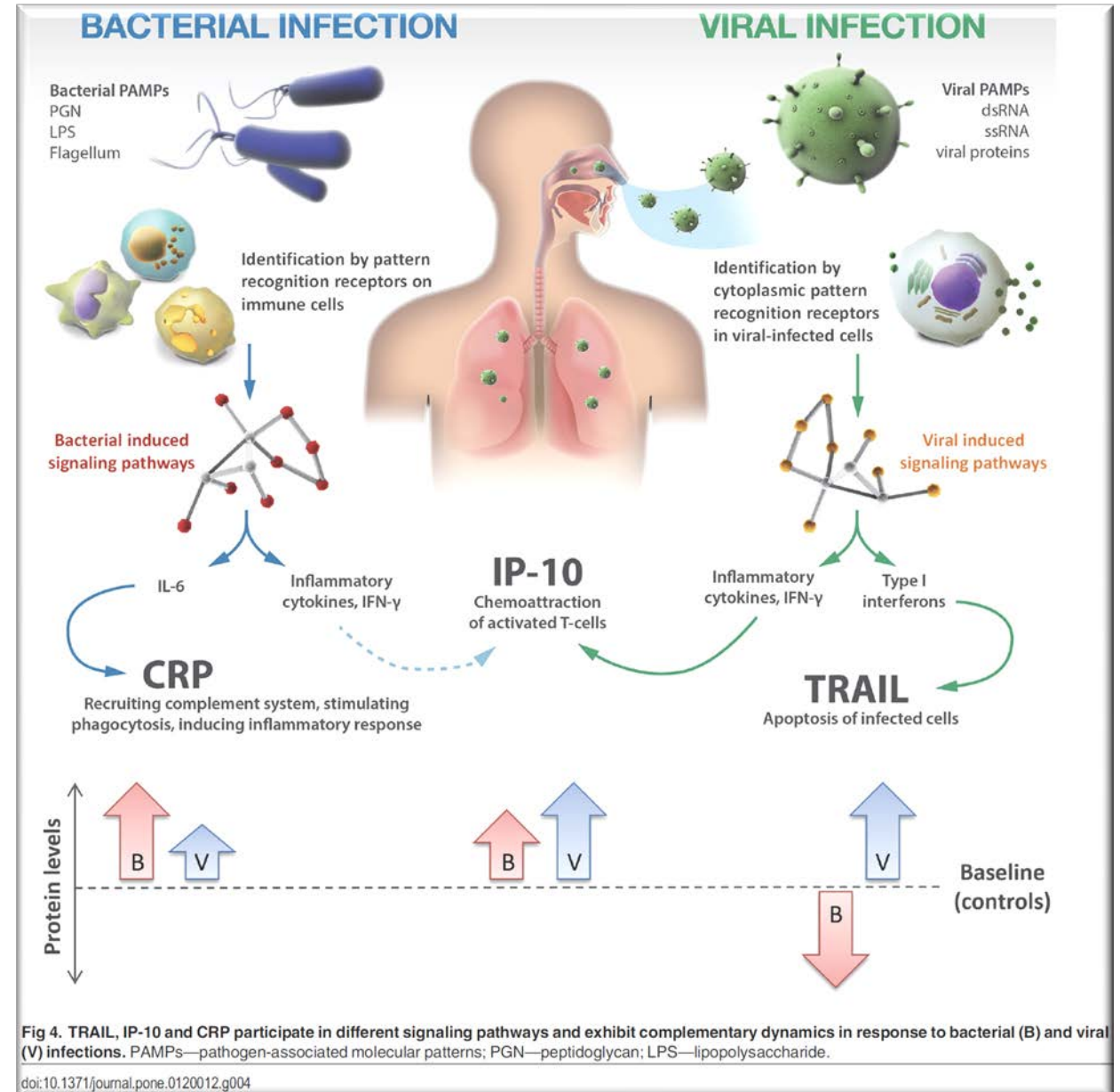
Virale vs. bakterielle Infektion



Host-Proteom Signature

Virale vs. bakterielle Infektion

- o **TRAIL**: **T**NF-**r**elated **a**poptosis-**i**nducing **l**igand
- o **IP-10**: **I**nterferon-gamma-induced **p**rotein-**10**
- o **CRP**: **C**-**r**eaktives **P**rotein

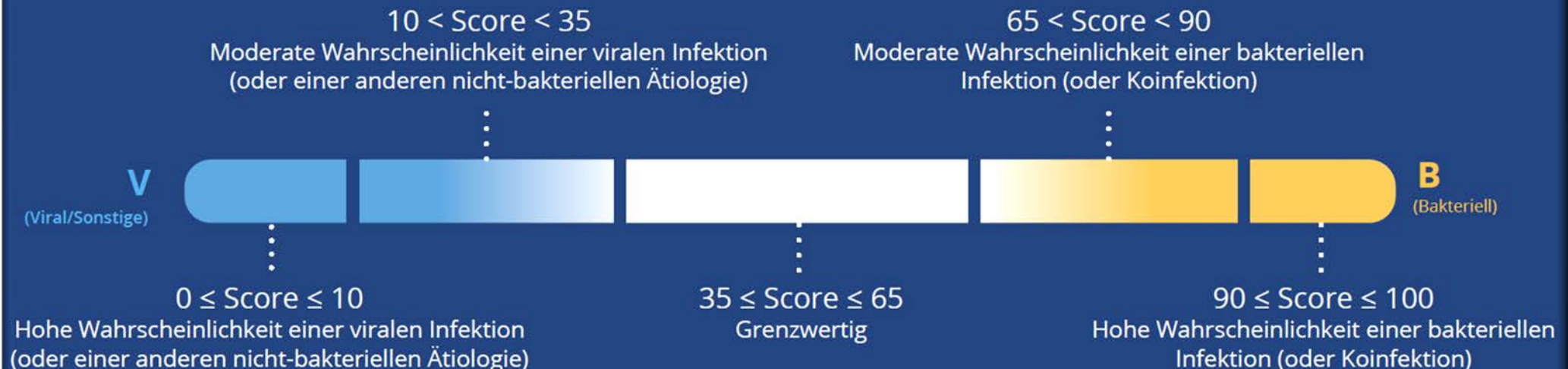


Host-Proteom Signature

Virale vs. bakterielle Infektion

Drei Biomarker + Machine Learning = bessere Patientenversorgung

Anhand einer einfachen serologischen Probe misst, analysiert und integriert **LIAISON® MeMed BV®** automatisch die Konzentration von drei Immunproteinen des Wirts zu einem einfachen Score, der die Wahrscheinlichkeit einer bakteriellen Immunantwort oder Koinfektion gegenüber der einer wahrscheinlich viralen Immunantwort anzeigt. Die computergestützte Signatur zur präzisen Diagnose von akuten bakteriellen (oder gemischten) gegenüber viralen Infektionen wurde an einer Kohorte von > 20.000 Patienten entwickelt und validiert. ⁽⁸⁻¹³⁾

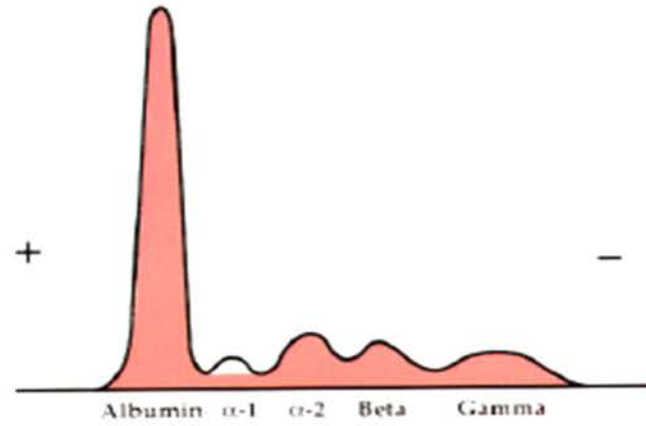


KLAUSUR HINWEIS

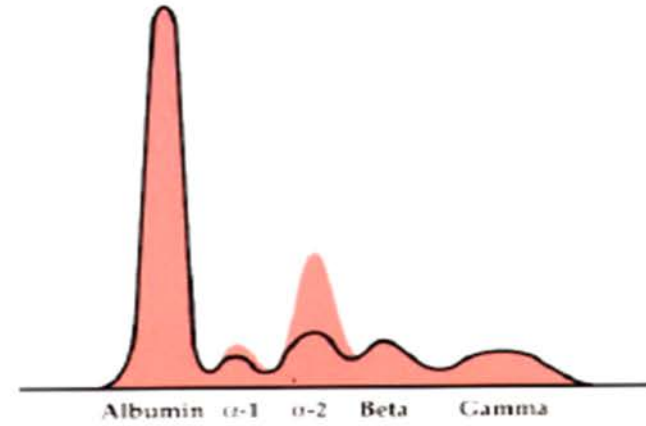


Differential-Blutbild

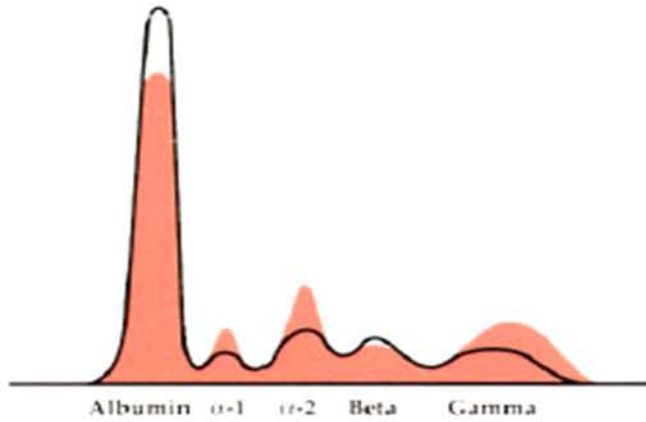
	Bakteriell	Viral	Steril	Allergisch	Chronisch
Granulozyten	(↑↑↑↑)	(<u>↓</u>)	↑	(↑)	(↑)
Links- verschiebung	↑		(↑)		
Monozyten					↑
Lymphozyten		↑ (↓)			
Eosinophile				↑	



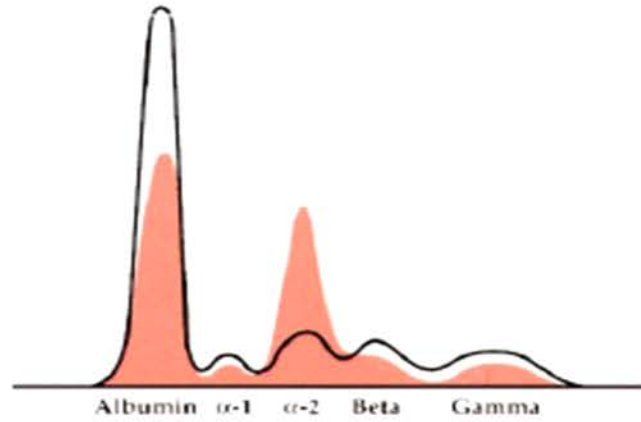
Alpha-1 Antitrypsin-Mangel



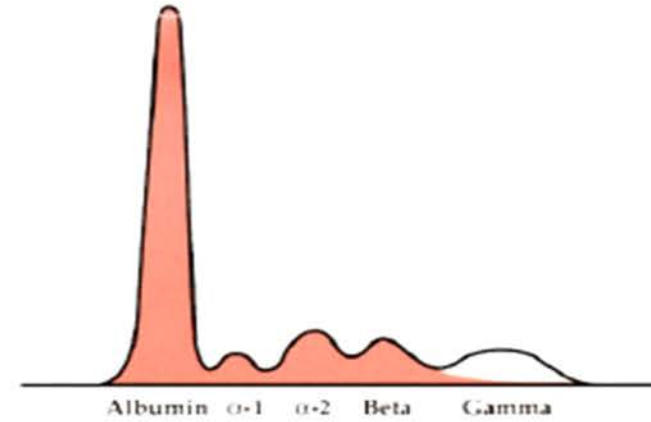
Akute Entzündung



Chronische Entzündung



Nephrotisches Syndrom



Hypogammaglobulinämie

„Ich habe
fertig“

