

LabTOPs

Wissenswertes aus der Laboratoriumsmedizin

Ausgabe 4 – Juli 2008

Redaktion Elke Schernikau

Nachweis und Monitoring von BK-Virusinfektionen bei nierentransplantierten Patienten

BK-Viren sind humane Polyoma-Viren und kommen endemisch weltweit vor. Es besteht eine starke Homologie zwischen BK-, JC- und SV40-Viren, die alle zur Gruppe der Polyomaviridae gehören. Ihr Genom besteht aus jeweils sechs Genen mit ca. 5.300 bp. Die Inzidenz der BKV-Infektion ist im frühen Kindesalter am höchsten und nimmt mit zunehmendem Alter kontinuierlich zu. Bei Erwachsenen liegt die Seroprävalenz bei ca. 60 – 100%. Die Übertragung der BK-Viren erfolgt von Mensch zu Mensch, wobei der genaue Übertragungsweg nicht eindeutig geklärt ist (wahrscheinlich über den Respirationstrakt). Im Rahmen einer Virämie kommt es zur Virusdissemination, zur Organbesiedelung und zu einer latenten Infektion, wobei ein Tropismus des BK-Virus für renale und uroepitheliale Zellen vorliegt. Aufgrund der lebenslangen Persistenz des BK-Virus kann dieses in ca. 30 – 50% gesunder Nierenepithelzellen nachgewiesen werden.

Erkrankungen durch BKV:

Immunkompetente Personen erkranken nicht. Bei Immunkompromittierten können folgende Erkrankungen auftreten:

1. Hämorrhagische Cystitis (v.a. nach KMT)
2. Ureterstenosen
3. Ulcerationen des Urothels
4. BKV-Nephropathie (BKVN)

BKV nach Nierentransplantation:

Die BKV-Infektionsrate bei Nierentransplantierten liegt zwischen 10 und 60%, wobei es sich hierbei meistens um die Reaktivierung latenter BKV-Infektionen handelt. Eine BKVirus-Nephropathie (BKVN) tritt typischerweise innerhalb des ersten Jahres nach Nierentransplantation auf und führt in etwa 30% der Fälle zum Transplantatversagen.

Risikofaktoren für eine BKVN:

1. Hochdosierte Immunsuppression
2. Einsatz depletierender Antikörper (Rituximab, ATG)

Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Klinik der BKV-Nephropathie:

- Keine spezifischen klinischen Symptome
- Meist interstitielle Nephritis mit Erhöhung des Serumkreatinins
- Abgrenzung gegenüber einer akuten Abstoßung (Auftreten häufig gleichzeitig mit BKV-Nephropathie und daher schwierig zu unterscheiden)

Diagnostik der BKV-Nephropathie:

1. Nachweis von Decoy-Zellen im Urin (= Tubuluszellen mit vergrößertem Kern und basophilen Einschlüssen wegen intrazellulärer BK-Virusmehrung u. lyt. Zellerstörung)
2. Histopathologische Untersuchung des Nierenbiopsats
3. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis durch PCR im Urin und/oder Plasma

BK-Virusnachweis durch PCR bei Patienten nach NTX:

Seit Oktober 2007 wird die BKV-PCR im KCI 2 – 3 x wöchentlich qualitativ und quantitativ durchgeführt. Hierbei wird ein 80 bp-Fragment des large T-Antigens in Anlehnung an R. Arthur et al. (1989) amplifiziert und mit spezifischen fluoreszenzmarkierten Sonden als „Real Time PCR“ (Echtzeit-PCR) nachgewiesen. Die Testdauer beträgt inklusive DNA-Isolierung ca. 1,5 Std. Die untere Nachweisgrenze dieses Tests liegt bei ca. 100 BKV-DNA-Kopien / ml, wobei ohne Verdünnung des Urins bzw. des Plasmas bis zu 1 Milliarde Kopien / ml linear gemessen werden können.

Als Screening-Methode bei Nierentransplantierten wird die BKV-PCR aus Urin empfohlen. Falls diese positiv ist, muss unterschieden werden, ob es sich um einen asymptomatischen Träger oder um eine aktive BK-Virusreplikation mit Nephritis bzw. BKV-Nephropathie handelt. Daher sollte bei positivem BKV-DNA-Nachweis aus Urin eine BKV-PCR aus EDTA-Plasma angeschlossen werden. Je nach Autor kann bei ca. 10 – 40% aller Nierentransplantierten BKV-DNA im Plasma nachgewiesen werden. Eine aktive BKVAN (BK virus-allograft nephropathy) ist in der Regel assoziiert mit einer BK-Virämie von > 5.000 BKV-DNA-Kopien/ml Plasma bzw. von > 10 Millionen BKVDNA-Kopien/ ml Urin.

Therapie und Monitoring von BKV-Nephropathien:

Bei positiver BKV-PCR im Plasma sollte die Immunsuppressiva- Therapie reduziert werden. Damit verbunden ist jedoch das Risiko des Auftretens oder der Verstärkung einer bereits bestehenden akuten Transplantat-Abstoßung. Ergänzend kann eine virostatische Therapie z.B. mit Cidofovir oder Leflunomid erfolgen.

Durch regelmäßige BKV-PCR-Verlaufskontrollen aus Plasma bzw. Urin kann der Therapieerfolg überprüft werden. Ziel ist es, eine Absenkung der BK-Viruslast unter die o.g. BKVNrelevante Virusmenge zu erreichen.

Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Serologische Diagnostik bei V.a. glutensensitive Enteropathie (GSE / Zöliakie / Sprue)

Klinik und Epidemiologie:

- Bei der „einheimischen“ Sprue oder Zöliakie mit den klassischen Leitsymptomen aufgetriebenes Abdomen, Steatorrhoe / chron. Diarrhoe und Gedeihstörung (im Kindesalter) handelt es sich um eine Unverträglichkeit von Gliadin und anderen alkohollöslichen Klebereiweißen (z.B. Prolamin) v. a. in Weizen, Roggen und Gerste, aber auch in geringerer Menge in Dinkel / Grünkern und Hafer. Diese Unverträglichkeit ist genetisch mit den HLA-Allelen DQA1*0501 bzw. DQB1*0201 assoziiert und bleibt lebenslang bestehen. Es finden sich familiäre Häufungen sowie Assoziationen zu Erkrankungen wie Typ-1-Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis und IgA-Mangel.
- Die Erstmanifestation erfolgt klassischerweise zwischen dem 6. und 18. Lebensmonat, in jüngerer Zeit lässt sich jedoch eine deutliche Verschiebung des Altersgipfels auf das 5. bis 6. Lebensjahr feststellen, wobei die „klassischen“ abdominellen Symptome nur in ca. 50% der Fälle vorliegen und einige Patienten bis ins Erwachsenenalter unerkannt bleiben. Die Prävalenz in Europa und Nordamerika ist nach neueren Erkenntnissen somit mit ca. 1:200 deutlich höher als für die klassische Verlaufsform angegeben wird (ca. 1:2000 für Europa und 1:10000(!) für Nordamerika).
- Oligosymptomatische und silente Erscheinungsbilder mit extraintestinaler, eher unspezifischer Manifestation können neben der Pädiatrie auch Patienten in ganz verschiedenen Fachdisziplinen betreffen (Dermatologie, Hämatologie, Endokrinologie, Neurologie, Gynäkologie, Orthopädie, Psychiatrie). Die Spätfolgen bei langer, unerkannter Laufzeit sind erheblich (irreversible Schädigung der Dünndarmzotten mit chron. Malabsorption / Maldigestion und den resultierenden Mangelerscheinungen sowie deutlich erhöhtes Risiko für Dünndarm-Malignome, v.a. Lymphome)
- Unter diesen Umständen ist eine einfache und rationelle serologische Diagnostik, wie sie uns seit einigen Jahren zur Verfügung steht, von eminenter Bedeutung!

Serologische Diagnostik:

- Die ESPGHAN (Europ. Gesellschaft f. päd. Gastroenterologie, Hepatologie u. Ernährung) forderte in den 70-er und 80-er Jahren noch einen positiven Behandlungsversuch mit glutenfreier Ernährung sowie 2-maliger Biopsie zur Diagnosestellung.
- Mit Einführung der ersten serologischen Immunfluoreszenz (IFT)-Methoden (endomysiale AK=EMA und anti-Gliadin- AK=AGA, später auch anti-Retikulin-AK=ARA) war es Ende der 80-er Jahre erstmals möglich, auch nicht-klassische

Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Verlaufsformen zu diagnostizieren, wobei die Bestimmung der Gliadin-Antikörper als Screeningmethode durch eine hohe Unspezifität gekennzeichnet ist und der EMA-IFT relativ aufwendig und schwierig zu interpretieren ist. Zudem steht der EMA i.d.R. nur als IgA-Test zur Verfügung, so dass er bei Kindern < 2 Jahren sowie bei Serum-IgA-Mangel nicht aussagekräftig ist. Das Gesamt-Serum-IgA sollte als wichtiger Parameter für die Interpretierbarkeit der Antikörper-Tests immer mitbestimmt werden.

- Im Jahr 1997 wurde die tissue-Transglutaminase (tTG) als Zielantigen der endomysialen Auto-Antikörper identifiziert und damit ein weiterer Meilenstein in der serologischen Diagnostik gelegt, da es jetzt möglich wurde, statt des Immunfluoreszenz-Tests ELISA-Tests mit weniger Aufwand und besserer Interpretierbarkeit einzusetzen. Die tTG ist ein ubiquitäres, intrazytoplasmatisches Enzym, welches bei Schädigung der Darmzellen freigesetzt wird. Hochtitrige Antikörper sind im Gegensatz zu den anti-Gliadin-Antikörpern spezifisch (99%) für die glutensensitive Enteropathie (GSE), niedrigtitrige Antikörper können in sehr seltenen Fällen auch durch eine Kreuzreaktivität mit anti-Aktin-Antikörpern verursacht werden. In unplausiblen Fällen (persistierende Antikörper trotz glutenfreier Diät bei fehlender klinischer Symptomatik) wird der EMA-IFT zur weiteren Klärung zusätzlich durchgeführt, wobei sich persistierende Antikörper jedoch meistens bestätigen, da der Autoimmunprozess häufig durch minimale Gluten-Spuren in der Nahrung auf niedrigem Level aufrecht erhalten wird.
- Seit 2004 stehen neben den ELISA-Tests auf tTG-IgA-AK auch Tests auf tTG-IgG-AK zur Verfügung. Dies hat den Vorteil, dass jetzt auch bei Patienten mit IgA-Mangel eine serologische GSE-Diagnostik durchgeführt werden kann, allerdings sind IgG-AK weniger sensitiv als IgA-AK.
- Ebenfalls 2004 wurden erstmals AK gegen synthetische Peptide (abgeleitet von teilweise desaminiertem γ -Gliadin) mit sehr viel besserer Spezifität für die Diagnostik der GSE beschrieben. Seit kurzem werden diese DGP (desaminierte Gliadinpeptide) auch in kommerziellen ELISA-Tests eingesetzt und lösen sukzessive die früheren unspezifischen anti-Gliadin-Tests ab (im KCI seit Mai 2008 routinemäßig)
- Vervollständigt wird die rationelle Diagnostik durch einen seit Ende 2007 verfügbaren „Over-All-Screeningtest“, der sowohl IgA- als auch IgG-Antikörper gegen sowohl tTG als auch DGP erfasst und kostengünstig als Eingangstest vorangestellt werden kann. Die Sensitivität liegt bei nahezu 99%, die Spezifität bei 97%. Im Fall eines positiven Screeningtests wird automatisch auf die Einzel-Antikörper weiter untersucht, damit quantitative Ausgangswerte für nachfolgende Verlaufskontrollen vorliegen.
- Im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin wird die Bestimmung des Screeningtests sowie der tTG-IgA-, tTG-IgG-, DGP-IgA- und DGP-IgG-AK routinemäßig einmal pro Woche durchgeführt.

Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Material:	20 µl Serum		
Referenzbereich für alle o.g. Antikörper:			
<20	U/ml		negativ
20-30	U/ml		grenzwertig positiv
>30	U/ml		positiv

Bitte beachten Sie, dass die ELISA-Tests zur Bestimmung dieser Antikörper nicht einheitlich standardisiert sind und die Absolutwert-Ergebnisse verschiedener Labore daher nicht miteinander verglichen werden können!

Bei besonderen Fragestellungen können natürlich jederzeit auch gezielt einzelne Antikörper ohne Screeningtest angefordert werden, wir bitten in solchen Fällen um kurze telefonische Rücksprache unter 0711/992-3500 oder -3504 (selbstverständlich stehen wir auch für Interpretationsfragen unter diesen Tel.-Nr. jederzeit gerne zur Verfügung)

Ausblick / Leitlinien:

Die überarbeiteten Leitlinien der ESPGHAN fordern im Moment den Nachweis von 2 verschiedenen IgA-Antikörpern (bei IgA-Mangel IgG-AK) sowie eine positive Dünndarmbiopsie, wobei im Gegensatz zu früher nicht nur destruktive, sondern auch infiltrative und hyperplastische Läsionen als Diagnosekriterium anerkannt werden (Klassifikation nach Marsh). Ob die Biopsie als Goldstandard in absehbarer Zeit von den serologischen Methoden abgelöst werden kann, wird die Zukunft zeigen.

Kontakt:

Klinikum Stuttgart
Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Katharinenhospital
Kriegsbergstraße 60
70174 Stuttgart
Telefon: 0711 278-34801