

Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.

PRÄSIDIUM

Präsident	Univ.-Prof. Dr. med. Michael Neumaier, Mannheim
Vizepräsident	Univ.-Prof. Dr. med. Berend Isermann, Magdeburg
Schriftführer	Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus P. Kohse, Oldenburg
Schatzmeister	Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant, Dresden
Weiteres Präsidiumsmitglied	PD Dr. rer. nat. Uta Ceglarek, Leipzig
Weiteres Präsidiumsmitglied	PD Dr. med. Matthias Orth, Stuttgart

GESCHÄFTSSTELLE

Prof. Dr. med. Michael Schmidt
Geschäftsstelle der DGKL

Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn
Telefon: 02 28 - 92 68 95-17
Telefax: 02 28 - 92 68 95-27
e-mail: geschaeftsstelle@dgkl.de

STÄNDIGE KOMMISSIONEN

Kommission für die Weiterbildung
und Anerkennung als klinischer Chemiker

Vorsitz Prof. Dr. rer. nat. Ingolf Schimke, Berlin

Kommission für die Ausbildung

Vorsitz Univ.-Prof. Dr. med. Cornelius Knabbe, Bad Oeynhausen

REFERENZINSTITUT FÜR BIOANALYTIK

Geschäftsstelle Dr. Rolf Kruse
Dr. Wolf-Jochen Geilenkeuser
Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn
Telefon: 02 28 - 92 68 95-0
Telefax: 02 28 - 92 68 95-29

Wissenschaftlicher Beirat

Vorsitz Univ.-Prof. Dr. med. Cornelius Knabbe, Bad Oeynhausen

MITTEILUNGEN

Schriftleitung Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant, Dresden

AUS DEM PRÄSIDIUM

Abschied mit gleichzeitigem Neuanfang Univ.-Prof. Dr. Michael Neumaier, Mannheim	131
---	-----

AUS DER GESCHÄFTSSTELLE

Neue Wege in der Hauptstadt	134
Der Countdown läuft: Der Deutsche Kongress der Laboratoriumsmedizin steht in den Startlöchern	136
Feierliche Preisverleihung im Rahmen des DKLM	137

AUS DEM REFERENZINSTITUT FÜR BIOANALYTIK

RfB - ein von der BÄK bestellter Ringversuchsanbieter mit „Vollsortiment“	139
---	-----

AUS DER GESELLSCHAFT

Einführungskurs „Abschätzung von Referenzintervallen“	140
Forschungsbericht Dynamik des Mikrobioms der Lunge in Abhängigkeit von einer standardisierten mikrobiellen Exposition im Mausmodell Dr. Dörthe Kesper, Marburg	141
Forschungsbericht L-Arginin, Methylarginine und andere Argininderivate als Modulatoren der Gefäßfunktion in der Gutenberg Gesundheitsstudie PD. Dr. Edzard Schwedhelm, Hamburg	148
Forschungsbericht Next Generation Sequencing-gestützte Dreilini-Transkriptomanalyse von myeloiden und lymphoiden variablen Immunrezeptoren Prof. Dr. Wolfgang Kaminski, Mannheim	157

VERANSTALTUNGEN

Eintauchen in eine andere Welt - der 33. Weltkongress der Internationalen Gesellschaft für Bluttransfusion in Seoul Prof. Dr. Michael Schmidt, Bonn	167
XIII. Internationaler Kongress für Pädiatrische Laboratoriumsmedizin Prof. Dr. Dr. Klaus P. Kohse, Oldenburg	169
IFCC WorldLab Istanbul vom 22. bis 26. Juni 2014 Univ.-Prof. Dr. Karl J. Lackner, Mainz	173
Minisymposium der Arbeitsgruppe Klinische Toxikologie der DGKL: Update Klinische Toxikologie 2014 - Klinik und Labor 17. und 18. Juni 2014 im Bildungszentrum Kloster Banz Dr. Jürgen Hallbach, München	175
EFLM - European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine	183
Deutsch-Französisches Gesundheitsforum: Journées Internationales de Biologie 2014 (JIB) Paris vom 08. bis 10. Oktober 2014	184
12. Anwendertreffen LC-MS/MS, 27. bis 28. November 2014, Kloster Banz	186
Jahresversammlung Schweizerische Gesellschaft für Klinische Chemie 29. bis 31. Oktober 2014, Basel	187
The 3rd EFLM-UEMS Congress, 07. bis 10. Oktober 2014, Liverpool (UK)	188
Veranstaltungskalender	189
PERSONALIA	
Neue Mitglieder, Verstorbene Mitglieder, Verschollene Mitglieder	190
Stellenanzeigen	192

Impressum

Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.

HERAUSGEBER	Univ.-Prof. Dr. med. Michael Neumaier, Universitätsmedizin Mannheim, Institut für Klinische Chemie, Theodor-Kutzer-Ufer 1-3, 68167 Mannheim, Tel.: +49 (0621) 3832222, e-Mail: Praesident@dgkl.de
SCHRIFTFÜHRUNG	Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant, Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Friedrichstr. 41, 01067 Dresden, Tel: +49 (0351) 480-3900, e-Mail: demant-th@khdf.de
REDAKTION LAYOUT & ANZEIGENVERWALTUNG	Silke Wiesemann und Vanessa Dietrich Vanessa Dietrich, Geschäftsstelle der DGKL, Friesdorfer Str. 153, 53175 Bonn, Tel: +49 (0228) 926895-22, e-Mail: geschaeftsstelle@dgkl.de
DRUCK UND VERSAND	Brandt GmbH, Rathausgasse 13, 53111 Bonn Tel: +49 (0228) 65 19 19, e-Mail: info@druckerei-brandt.de
AUFLAGE	ca. 1200 Stück
ERSCHEINUNGSWEISE	vierteljährlich
ISSN	0173-6647

Abschied mit gleichzeitigem Neuanfang

Auf den Tag genau sind es zwei Jahre, die Professor Dr. Michael Schmidt als Stiftungsvorstand die Geschäfte der Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik des Referenzinstituts für Bioanalytik (RfB) und der Geschäftsstelle der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL) leitete.

„Nur zwei Jahre?“ werden viele, die mit Michael Schmidt in dieser Zeit zusammengearbeitet haben, fragen. Denn gefühlt war die Zeit deutlich länger, was auch an den unglaublich zahlreichen Aktivitäten lag, die Michael Schmidt sofort nach seinem Einstieg in die DGKL entfaltete. Mit außergewöhnlichem Ideenreichtum und einem sehr hohen Arbeitspensum hat er sich verschiedensten Themen rund um RfB und DGKL gekümmert. Zusammen mit Präsidium und Stiftungsrat hat er eine Vielzahl von Projekten ins Leben gerufen, angeschoben und umgesetzt, hat Ideen aufgegriffen, Initiativen gestartet und so den Stiftungsrat und das Präsidium ganz maßgeblich bei deren Arbeit unterstützt.

Unter Michael Schmidt's Mitarbeit und der exzellenten Teamarbeit mit Frau Wiesemann konnte die Fachgesellschaft ihre Nachwuchsakademie ins Leben rufen, die Strategietreffen und Symposien ausbauen und die Präsenz des RfB und der Fachgesellschaft bei nationalen und internationalen Tagungen



Michael Schmidt am DGKL Stand bei der Jahrestagung in Dresden 2013

erheblich verstärken. Einige der Projekte wie die Begleitung der Arbeiten zur neuen RiLiBÄK oder die Organisation von Aktivitäten bei der Etablierung von Ringversuchen zum MELD-Score etc. wurden erfolgreich abgeschlossen, bei anderen befinden wir uns auf einem guten Weg, wieder andere befinden sich in teils fortgeschrittenen Planungsphasen. Ob beim Ausbau der Ringversuche

und neuer Ringversuchsformate, bei neuen Kooperationen mit anderen diagnostischen Fachdisziplinen wie der Pathologie, der Genetik oder der Mikrobiologie: Stets war Michael Schmidt mit vollem Einsatz, geschickter Verhandlungsführung und einer generell glücklichen Hand an vorderster Front für die Projekte von RfB und DGKL unterwegs. Dabei hat er - sei es in der MENA-Region oder in China - eine Reihe wichtiger Kontakte gebahnt, die durchaus von strategischer Bedeutung für uns sein können.

Die von ihm vorbereiteten Stiftungsratsbesprechungen und Präsidiumssitzungen der letzten 2 Jahre sind Legende, da jedes der vielen laufenden Projekt jeweils mit aktuellem Status zur Erörterung kam, und sich so Zahl und Umfang der Handouts und Tischvorlagen sprunghaft erweiterten. Die dankbaren Sitzungsteilnehmer nahmen es stets freundlich auf, dass eine derartig umfangreiche Themenbehandlung die Dauer der Treffen regelhaft in die frühen Morgenstunden ausdehnte.

Zum 1. Oktober 2014 verlässt Michael Schmidt RfB und DGKL, um sich beim Blutspendedienst des Deutschen Roten Kreuzes neuen Herausforderungen zu stellen. Die Stiftung Pathobiochemie und molekulare Diagnostik verliert mit ihm einen starken Motor für die sehr unterschiedlichen fachspezifischen Aktivitäten der letzten zwei Jahre.



Der neue Stiftungsvorstand Dr. Roland Augustin

Im Rahmen eines mehrstufigen Bewerbungsverfahrens konnte der Stiftungsrat einen neuen Vorstand finden. Am 1. Oktober 2014 wird Herr Dr. Roland Augustin als Nachfolger von Professor Schmidt die Position des neuen Stiftungsvorstandes übernehmen. Herr Dr. Augustin ist Naturwissenschaftler und Lebensmittelchemiker.

In der Vergangenheit war er wesentlich am Aufbau der Nationalen Anti-Doping Agentur (NADA) beteiligt, die er in der Anfangsphase auch als Geschäftsführer leitete. Qualitätsmanagement und Abläufe aus dem Labor sind ihm aus seiner intensiven beruflichen Tätigkeit als Leiter der Überwachungs- und Zertifizierungsstelle eines internationalen Life-Science-Unternehmens vertraut. Durch zahlreiche Auslandsaufenthalte

und Teilnahme an internationalen Fachsymposien, vor allem in Asien, ist Dr. Augustin mit den neuesten Entwicklungen der Analytik, der Biochemie und der Qualitätssicherung teilgenommen. Der Stiftungsrat ist sich sicher, mit Herrn Dr. Augustin einen Vorstand gefunden zu haben, der die erfolgreiche Arbeit seines Vorgängers fortsetzen kann und weitere Akzente bei der Fortentwicklung der Stiftung und des RfB setzen wird. Der Stiftungsrat, das DGKL Präsidium sowie die Mitarbeiter von DGKL Geschäftsstelle, Stiftung und RfB wünschen Herrn Dr. Augustin einen guten Start bei uns und Herrn Prof. Schmidt für seinen Wechsel alles Gute.

VERFASSTER:

Univ.-Prof. Dr. Michael Neumaier
DGKL Präsident

Neue Wege in der Hauptstadt

Die DGKL Geschäftsstelle beschreitet neue Wege, um die Sichtbarkeit der Fachgesellschaft bei Vereinen, Verbänden, Gesellschaften, aber auch bei Politikern zu verbessern, indem sie seit kurzem ein Büro in Berlin, in dem Komplex Alt-Moabit 96, angemietet hat. Damit befindet sich das Berliner Büro der DGKL Geschäftsstelle in direkter Nachbarschaft zu dem Medizinischen Fakultätentag (MFT) sowie dem Verband der Universitätsklinika Deutschland e.V. (VUD). Diese strategische Kooperation ermöglicht der DGKL noch stärker als in der Vergangenheit ein ständiges Ohr für beide Organisationen zu haben und somit unmittelbar aus erster Quelle über Veränderungen informiert zu werden.



In Berlin stehen der DGKL neben einem Büro auch verschiedenen große Tagungs- und Konferenzräume zur Verfügung, so dass Arbeitsgruppen und Sitzungen des DGKL Präsidiums, DGKL Fachexpertengruppen künftig in Berlin durchgeführt werden können. Schon in diesem Jahr haben diverse DGKL Veranstaltungen in den neuen Räumen stattgefunden und fanden bei den Teilnehmern einen großen Zuspruch.

Mit den Räumlichkeiten und der DGKL Geschäftsstelle erweitert sich auch die Zahl der DGKL Mitarbeiter: Ab September ist Frau Dr. Gesa Albert die zusätzliche Ansprechpartnerin für die DGKL in Berlin, die ganztägig von montags bis freitags erreichbar ist. Damit hat die DGKL ein neues Gesicht in der Hauptstadt. Unter der Leitung von Frau Silke Wiesemann wird Frau Dr. Albert für die

Abteilung Öffentlichkeitsarbeit und PR an einer Verbesserung der Wahrnehmung der DGKL in Berlin, der Kontaktpflege zu Institutionen, Organisationen, Politik und Wirtschaft sowie auch in der Organisation von Veranstaltungen in der Hauptstadt beschäftigt werden. Darüber hinaus wird sie auch in die vielschichtigen Aufgaben der DGKL, der Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik sowie des Referenzinstituts für Bioanalytik eingebunden werden. Außerdem wird sie sich aktiv an dem bereits begonnenen MTA-Schulungsprogramm an MTA-Schulen und niedergelassenen Laboratorien sowohl auf organisatorischer Ebene als auch als Referentin beteiligen. Frau Dr. Albert hat Biologie in Kaiserslautern und Würzburg studiert, war anschließend wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Organische Chemie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen in Kooperation mit dem HNRCA der Tufts-University Boston, USA. Sie hat im Anschluss am Leibniz-Institut für molekulare Pharmakologie und der Freien Universität Berlin im Fachbereich Biochemie in Berlin promoviert zu dem Thema der funktionellen Charakterisierung von GYF-Domain-beinhaltenes Proteine und war bis zur Tätigkeit in unserer Fachgesellschaft als Post-Doc an der Freien Universität in Berlin beschäftigt. Während ihres Studiums spielte Öffentlichkeitsarbeit eine große Rolle. In diesem Zusammenhang war sie stellvertretende Fachschaftssprecherin des Fachbereichs Biologie,



ebenso hat sie sich aktiv in der Lehre beteiligt, indem sie eine Ringvorlesung des Masterstudiengangs Biochemie der FU-Berlin durchführte und auch in der Betreuung von Studenten aktiv war.

Nach einer Einarbeitungszeit in Bonn wird Frau Dr. Albert auch bei dem Deutschen Kongress der Laboratoriumsmedizin während der Industrieausstellung am 25. und 26. September 2014 am DGKL-Stand (Stand-Nr. 368) als Ansprechpartnerin zur Verfügung stehen und im Rahmen der Mitgliederversammlung vorgestellt.

Ab dem 30. September ist Frau Dr. Albert dann in dem Berliner Büro unter der **Rufnummer 030 / 39405415** oder **per Mail unter berlin@dgkl.de** zu erreichen.

Der Countdown läuft: Der Deutsche Kongress der Laboratoriumsmedizin steht in den Startlöchern

In wenigen Tagen startet der Deutsche Kongress der Laboratoriumsmedizin (DKLM). Vom 24. bis 27. September 2014 findet in Mannheim die Veranstaltung statt, über die die Branche spricht und die mit Spannung erwartet wird.

Erstmals schließen sich verschiedene Berufsgruppen der in der Labormedizin Tätigen in einem neuen Kongressformat zusammen. So ist der DKLM zum einen die Plattform für die 11. Jahrestagung der DGKL und zum anderen für die diesjährige Fachtagung „Biomedizinische Analytik“ des DVTA, Dachverband für Technologen/-innen und Analytiker/-innen in der Medizin in Deutschland. Auch hat sich der Berufsverband Deutscher Laborärzte (BDL) mit seiner diesjährigen Herbsttagung dem Kongress ebenso angeschlossen wie die Berufsvereinigung der Naturwissenschaftler in der Labordiagnostik (BNLD), die ebenfalls an der wissenschaftlichen Gestaltung des Programms beteiligt war. Schließlich sind – fast schon eine gute Tradition in Mannheim – auch die Schwesterfachgesellschaften aus Österreich und der Schweiz mit eigenen Symposien vertreten.

Unter dem Titel „Moderne Labormedizin in der sich wandelnden Gesellschaft“ verbindet die Struktur des Kongresses viele



Veranstaltungen des Programms thematisch und ausrichtungsbezogen miteinander: Neben einem Strang mit starker Betonung grundlagenorientierter Wissenschaft konzentriert sich ein anderer auf die angewandt-wissenschaftliche Besprechung diagnostischer Themen mit Betonung des interdisziplinären Charakters des Kongresses. Weitere Stränge konzentrieren sich auf Fortbildungsthemen oder analytisch-methodische Aspekte. Schließlich ist die bisher größte Zahl umfangreicher und hochaktueller Schulungs- und Fortbildungsveranstaltungen in Form von Workshops, praktischen Kursen und Seminaren integraler Teil des DKLM. Das vollständige Hauptprogramm ist unter www.laboratoriumsmedizin2014.de einsehbar.

Die diagnostische Industrie beteiligt sich mit einer großen Ausstellung sowie einer Vielzahl an Lunch-Symposien ab dem ersten „Plattformkongress“ DKLM und wird die Teilnehmer umfassend zu technischen und

analytischen Neuerungen informieren. Am Donnerstag, 25. September, findet im Rahmen der Ausstellung der „Abend der Industrie“ statt, an dem man abseits des wissenschaftlichen Programms Zeit für einen regen Austausch zwischen den Kongressteilnehmern hat. Der diagnostischen Industrie sei für ihr Engagement beim DKLM gedankt. Am Freitag, den 26. September findet ab 19.30 Uhr der Gesellschaftsabend als festlicher Höhepunkt des Kongresses im Mannheimer Technoseum, einem der drei großen Technikmuseen Deutschlands, statt. In diesem feierlichen Rahmen werden auch die Vortrags- und Posterpreise des DKLM verliehen.

Wer kurzentschlossen den Kongress besuchen möchte, kann sich über <http://laboratoriumsmedizin2014.de/teilnehmerregistrierung/> online auch kurzfristig anmelden

Feierliche Preisverleihung im Rahmen des DKLM

Es zählt zu den wichtigen Aufgaben einer Fachgesellschaft, exzellente wissenschaftliche Forschung und ihre Ergebnisse, auszuzeichnen und zu würdigen. So verfügt auch die DGKL über zahlreiche Preise, mit denen Forschungsleistungen von Wissenschaftlern in diversen Karrierestadien prämiert werden.

In diesem Jahr wurden zwei Preise innerhalb der Fachgesellschaft ausgeschrieben, der Ivar-Trautschold-Nachwuchsförderpreis sowie der Gábor-Szász-Preis.

oder an der Tageskasse seine Tagungsregistrierung vornehmen. Um medizinisch-technischen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter auch eine Teilnahme an den breit gefächerten Fortbildungsprogrammen zu ermöglichen, bitten wir die Labor- und Klinikleitungen, die Besuche ihrer Mitarbeiter zu unterstützen.

Für die nächste in Mannheim stattfindende Tagung im Jahr 2016 ist eine Fortsetzung des gemeinsamen Kongresses von DGKL und DVTA als DKLM vorgesehen. Demgegenüber findet die 12. Jahrestagung der DGKL wie in der Vergangenheit als Einzelkongress vom 14. bis 17. Oktober 2015 im Congress Center Leipzig unter dem Motto „Aktuelle Herausforderungen der Labormedizin für die Gesundheit und Früherkennung von Erkrankungen“ statt.

Traditionell wird der Ivar-Trautschold-Nachwuchsförderpreis im Rahmen des alle zwei Jahre stattfindenden Staudinger Symposiums verliehen. So konnte bereits im Mai Professor Dr. Lesca Holdt von der LMU München den Nachwuchsförderpreis der DGKL in Kloster Banz entgegennehmen. Im Rahmen der Eröffnungsfeier des Deutschen Kongresses der Laboratoriumsmedizin wird sie noch einmal für ihre Arbeiten zur Bedeutung von Alu-Elementen in langer nicht codierender RNA für die Genregulation gewürdigt.

Spannend bis zuletzt bleibt die Frage, wer in diesem Jahr mit dem Gábor-Szász-Preis ausgezeichnet wird. Er wird für herausragende wissenschaftliche Arbeiten auf dem Gebiet der Klinischen Chemie und Pathobiochemie aus den vergangenen drei Jahren verliehen. Der Preisträger oder die Preisträgerin der mit insgesamt 15.000 Euro dotierten Auszeichnung wird im Rahmen der feierlichen Verleihung des Preises seine wissenschaftlichen Forschungsergebnisse in einem Vortrag präsentieren.

Bereits seit 1981 wird der Gábor-Szász-Preis, zunächst von der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC) und nach der Fusion mit der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin (DGLM), auch von der DGKL verliehen. Zu den bisherigen Preisträgern gehören namhafte Vertreter, von denen sicherlich viele auch an der diesjährigen Preisverleihung teilnehmen werden wie zum Beispiel Professor Daniel Teupser, Professor Thomas Renné, Professor Harald Renz, Professor Eberhard Schleicher, Professor Lothar Siekmann, Professor Walter Guder sowie der amtierende DGKL Präsident und Kongresspräsident des DKLM, Professor Michael Neumaier.

Verleihung des Gabor-Szasz-Preises an Professor Dr. Theodor Bücher

Die Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie verlieh anlässlich der Eröffnung des „First Joint Meeting of the British, German and Dutch Societies of Clinical Chemistry“ am 8. April 1981 in Noordwijkerhout erstmals den Gabor-Szasz-Preis. Der erste Preisträger ist Professor Dr. Theodor Bücher, der den Preis für seine richtungweisenden Arbeiten auf dem Gebiet der Klinischen Enzymologie erhielt.



Laudatio anlässlich der Verleihung des Gabor-Szasz-Preises an Herrn Professor Dr. Theodor Bücher durch den Präsidenten der DGKLH, H. Greiling

Der Gábor-Szász-Preis wurde erstmals verliehen in 1981 an Dr. Theodor Büchner aus München.

Die Eröffnungsfeier des Deutschen Kongresses der Laboratoriumsmedizin mit der Würdigung der Ivar-Trautschold-Preisträgerin und der Verleihung des Gábor-Szász-Preises findet am 24. September, ab 17 Uhr im Musensaal des Mannheimer Congress Centers Rosengarten statt.

RfB - ein von der BÄK bestellter Ringversuchsanbieter mit „Vollsortiment“



Die Bundesärztekammer fordert in ihrer Richtlinie zur Qualitätssicherung für laboratoriumsmedizinische Untersuchungen sowohl die Durchführung einer „Internen Qualitätskontrolle“ (IQC), aber auch für circa 150 Analyte die regelmäßige, erfolgreiche Durchführung einer „Externen Qualitätskontrolle“ (EQC) anhand von Ringversuchen. In der aktuellen Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Fassung vom 23.09.2011) werden die Untersuchungen in 5 Teilbereiche (Teil B1 bis B5) unterteilt.

Das Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) wurde von der Bundesärztekammer für die Teile B1 (Quantitative Untersuchungen), B2 (Qualitative Untersuchungen), B4 (Ejakulat) und B5 (Molekulargenetische und zytogenetische Untersuchungen) als Ringversuchsorganisation bestellt und hat gegenwärtig einen Antrag auf Bestellung nach B3 (Infektionserreger) gestellt. Unter dem Teil B3 findet man Ringversuche zum Nachweis von Bakterien (z.B. *Borrelia burgdoferi*, *Chlamydia pneumoniae* oder *Mykobakterium tuberculosis*), Ringversuche zum Nachweis von Pilzen (z.B. *Cryptococcus neoformans*), dem Nachweis von Parasiten (z.B. *Toxoplasma gondii*) und dem Nachweis von Viren (z.B. Hepatitis C Virus oder HIV-1). Alle Ringversuche dazu stehen in dem neuen Programmheft für 2015 des RfB, das in diesen Tagen verschickt wird.



Da das RfB in Zusammenarbeit mit verschiedenen Kooperationspartnern auch die Realisierung aller noch fehlenden Parameter aus B3 für das 1. und 2. Quartal 2015 plant, wird die offizielle Bestellung des RfB für den Teil B3 nach Informationen durch die Bundesärztekammer im September im Anschluss an die Fachgruppentagung D3 erfolgen. Damit haben die medizinischen Laboratorien in naher Zukunft die Möglichkeit, alle in Deutschland vorgeschriebenen Ringversuche beim RfB zu erhalten. Die Ankündigung für diese neuen Ringversuche nach B3 werden rechtzeitig auf der Homepage unter dem Punkt <RV-Programm> im Unterpunkt „Aktuelle Ringversuchsergänzungen“ zu finden sein.

EINFÜHRUNGSKURS „ABSCHÄTZUNG VON REFERENZINTERVALLEN“

Referenzintervalle können mittels eines statistischen Verfahrens („Verteilungszerlegung“) aus Patientendaten abgeschätzt werden, die in Labordatenbanken gespeichert sind. Es wurde eine Excel-Oberfläche entwickelt, die eine Anwendung des Verfahrens ohne spezielle statistische Kenntnisse erlaubt. Das Programm kann über die Homepage der DGKL (Mitgliederbereich, AG Richtwerte) heruntergeladen werden.

In einem Einführungskurs soll im Rahmen des Deutschen Kongresses der Laboratoriumsmedizin interessierten Anwendern die Installation und Bedienung des Programms vorgestellt werden. Möglichkeiten und Grenzen des Verfahrens werden im Workshop „Die Bedeutung von Referenzintervallen für die Diagnostik“ vorgestellt und besprochen.

Der **Einführungskurs** findet statt am
FREITAG, DEN 26. SEPTEMBER
von 12.30 Uhr bis 14.00 Uhr

während der DGKL-Jahrestagung 2014 im Anschluss an den Workshop „Die Bedeutung von Referenzintervallen für die Diagnostik“.

VERFASSER:

Prof. Dr. Eberhard Gurr
für die AG Richtwerte



Dynamik des Mikrobioms der Lunge in Abhängigkeit von einer standardisierten mikrobiellen Exposition im Mausmodell

Dörthe A. Kesper¹, Antje Legatzki², Thorsten Buch³, Eugen Domann⁴ und Harald Renz¹

¹ Institut für Laboratoriumsmedizin, Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik, Philipps-Universität Marburg, ² Dr. von Haunerische Kinderklinik, Klinikum der Universität München, ³ Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene, Technische Universität München, ⁴ Institut für Medizinische Mikrobiologie, Biomedizinisches Forschungszentrum Gießen

ABSTRACT

Lange Zeit wurde die Lunge als sterile Umgebung betrachtet. Durch moderne Untersuchungsmethoden konnte jedoch gezeigt werden, dass auch hier – ähnlich wie im Darm – Mikroben nachweisbar sind. Über die Zusammensetzung des Lungenmikrobioms ist jedoch bisher wenig bekannt. Die Kultivierung von Bakterien und die Analyse der bakteriellen 16s RNA aus Lungengewebe der Maus zeigt, dass sich das Lungenmikrobiom zunächst aus wenigen Arten zusammensetzt, jedoch mit zunehmendem Alter an Komplexität zunimmt. Bei adulten Tieren können Vertreter der Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria und der Tenericutes nachgewiesen werden. Eine akute allergische Atemwegsentszündung bzw. eine Exposition mit einem einzelnen Bakterium (*Acinetobacter lwoffii* F78) haben keinen Einfluss auf die Zusammensetzung des murinen Lungenmikrobioms.

EINLEITUNG

Durch ausführliche Untersuchungen des Mikrobioms des Darms konnte gezeigt werden, dass die Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms die Ausprägung chronisch-entzündlicher Erkrankungen beeinflusst, vermutlich durch die Modulation von Toleranzmechanismen des gastrointestinalen Immunsystems (Karlsson et al., 2013). Des Weiteren wurde im Tiermodell gezeigt, dass das Fehlen einer mikrobiellen Besiedlung die Ausprägung einer experimentell induzierten Atemwegsentszündung verstärkt (Olszak et al., 2012). Die tiefen Atemwege wurden über lange Zeit als eine sterile Umgebung aufgefasst. Erste Untersuchungen haben jedoch nachgewiesen, dass in der erkrankten Lunge z.B. im Rahmen einer Mukoviszidose eine mikrobielle Besiedlung der Lunge nachgewiesen werden kann (Rabin und Surette 2012). Auch in der gesunden Lunge wurden erste Analysen zum Nachweis

von Mikroorganismen durchgeführt, welche implizieren, dass die Atemwege entgegen früherer Annahmen nicht steril sind, sondern eine dauerhafte Besiedlung vorliegt (Zakharkina et al., 2013). Im Rahmen des Projektes sollten neue Erkenntnisse zur Zusammensetzung des Lungenmikrobioms und der Einfluss von chronisch-entzündlicher Erkrankungen wie Asthma auf diese Zusammensetzung gewonnen werden. Des Weiteren wurde analysiert ob eine intranasale Exposition mit Asthma-protectiven Bakterien *Acinetobacter lwoffii* F78 (Debarry et al., 2007) die Zusammensetzung des Lungenmikrobioms moduliert.

METHODEN

Es erfolgt zunächst die sterile Probenentnahme des zu analysierenden Lungengewebes. Hierzu wurden alle verwendeten Instrumente und Plastikgefäße autoklaviert und alle Arbeitsflächen durch Verwendung von UV-Bestrahlung und DNA-Exitusplus™ (Applichem) dekontaminiert. Es erfolgte die Entnahme der gesamten Lunge oder der Lunge in drei Teilstücken: Trachea, proximale Atemwege und distale Atemwege (zur Aufdeckung eventueller Unterschiede im Mikrobiom in verschiedenen Kompartimenten der Atemwege).

Die Behandlung mit *A. lwoffii* F78 erfolgte an jedem zweiten Tag für 24 Tage mit 1×10^8 cfu der Bakterien (Abb. 1A).

Zur Induktion einer inflammatorischen Atemwegsentzündung wurden Balb/c Mäuse am Tag 0, 7 und 14 subkutan mit Ovalbumin (OVA) sensibilisiert und anschließend an den Tagen 26, 27 und 28 mit OVA provoziert (1% OVA als Aerosol für 20 min). Die Kontrolltiere wurden mit PBS sensibilisiert (Abb. 1B).

Die Exposition mit dem *A. lwoffii* F78 erfolgte an jedem zweiten Tag für 24 Tage.

Zur Analyse der 16s RNA-Sequenzen erfolgte nach der Isolierung der DNA eine Sequenzierung der Proben auf einem GC Junior System (Roche).

Alle tierexperimentellen Versuche fanden nach den gesetzlichen Vorgaben des europäischen Tierschutzgesetzes statt.

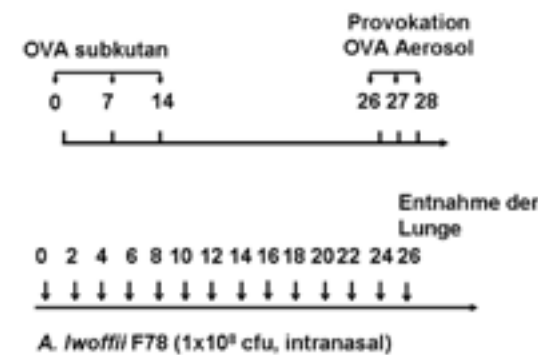


Abb. 1 A: Exposition der Tiere mit *Acinetobacter lwoffii*; die Tiere wurden an jedem zweiten Tag mit 1×10^8 cfu des Bakteriums behandelt. Der Behandlungszeitraum betrug 24 Tage. B: Induktion der allergischen Atemwegsentzündung durch dreimalige subkutane Sensibilisierung mit Ovalbumin (OVA) an den Tagen 0, 7 und 14 und dreimalige Provokation an den Tagen 26, 27 und 28.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Bei der Analyse des Mikrobioms der gesamten Lunge von Balb/c Mäusen im Alter von 8 Wochen mittels der Sequenzierung der 16s rRNA zeigte sich, dass innerhalb der Lunge zahlreiche Mikroben unterschiedlicher Phyla nachgewiesen werden können. Die durch die Sequenzierung detektierten Operational Taxonomic Units (OTUs) können größtenteils den Phyla der Firmicutes und der Bacteroidetes zugeordnet werden; außerdem konnten Vertreter der Actinobacteria, der Proteobacteria und der Tenericutes nachgewiesen werden (Abb. 2); eine ähnliche Verteilung der Phyla wurde sowohl im murinen als auch im humanen Darm nachgewiesen. In der humanen Lunge sind ebenfalls die Phyla der Firmicutes, Bacteroidetes und der Proteobacteria am häufigsten nachzuweisen (Beck et al., 2012). Betrachtet man die Ergebnisse auf Familienebenen, entstammen die meisten OTUs den Bacteroidaceae, Lachnospiraceae, Streptococcaceae, Lactobacillaceae, Ruminococcaceae und Enterococcaceae (Abb. 3). Eine große Anzahl von Lachnospiraceae und Ruminococcaceae wurde ebenfalls im Mikrobiom des Darms nachgewiesen; ein hoher Anteil von Lactobacillaceae scheint jedoch im Darm eher untypisch zu sein (Brinkman et al., 2011).

Ebenfalls analysiert wurde das Mikrobiom der Lunge nach der Behandlung mit dem asthmaprotektiven Bakterium *Acinetobacter lwoffii* F78 und nach der Induktion

einer allergischen Atemwegsentzündung mit Ovalbumin. Bei diesen Versuchen wurden parallel Kontrolltiere mit PBS behandelt.

Die Analyse des Atemwegsmikrobioms zeigte, dass auch hier der überwiegende Anteil der OTUs den Phyla der Firmicutes und der Bacteroidetes zugeordnet werden konnte. Auch die Verteilung der bakteriellen Familien stimmte mit denen der unbehandelten Tiere überein. Dies galt ebenfalls für die PBS behandelten Kontrolltiere (Abb. 2 und 3). Die fehlenden Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen deuten daraufhin, dass das Lungenmikrobiom relativ stabil ist und durch eine akute allergische Atemwegsentzündung nicht beeinflusst wird. Ob dies auch für eine chronische Atemwegsentzündung gilt, muss in weiteren Experimenten geklärt werden. Auch die Exposition mit einem einzelnen Bakterium wie *A. lwoffii* F78 ist nicht in der Lage das Atemwegsmikrobiom zu beeinflussen und kann somit auch nicht über die Modulation des Atemwegsmikrobioms die Immunreaktion in Richtung eines asthmaprotektiven Phänotyps polarisieren.

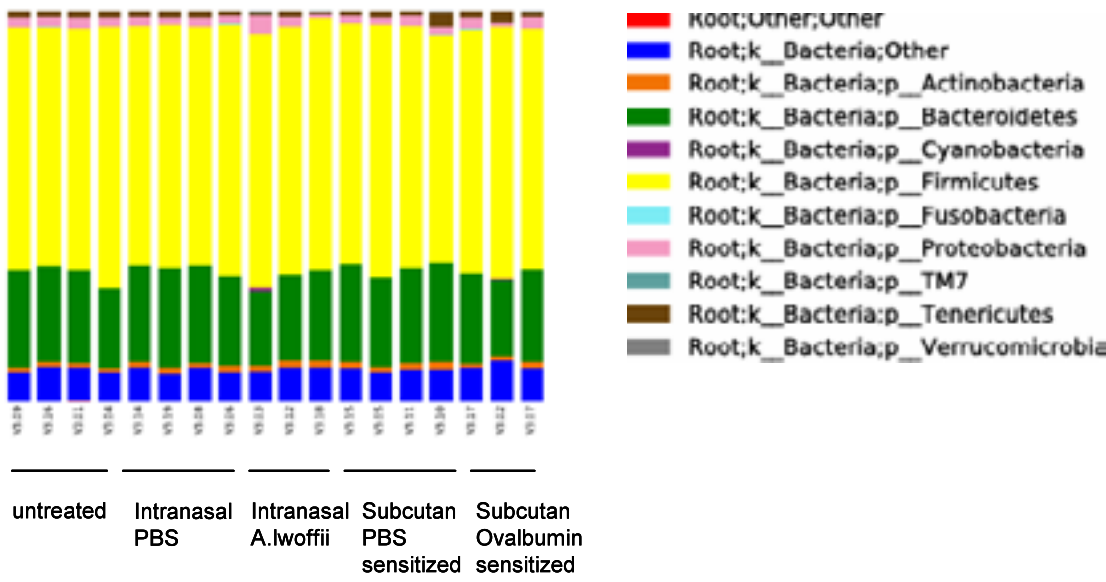


Abb. 2: Verteilung der nachgewiesenen Phyla in Lungen von unbehandelten Mäusen, Acinetobacter Iwoffii behandelten und asthmatischen Tieren sowie PBS behandelten Kontrolltieren.

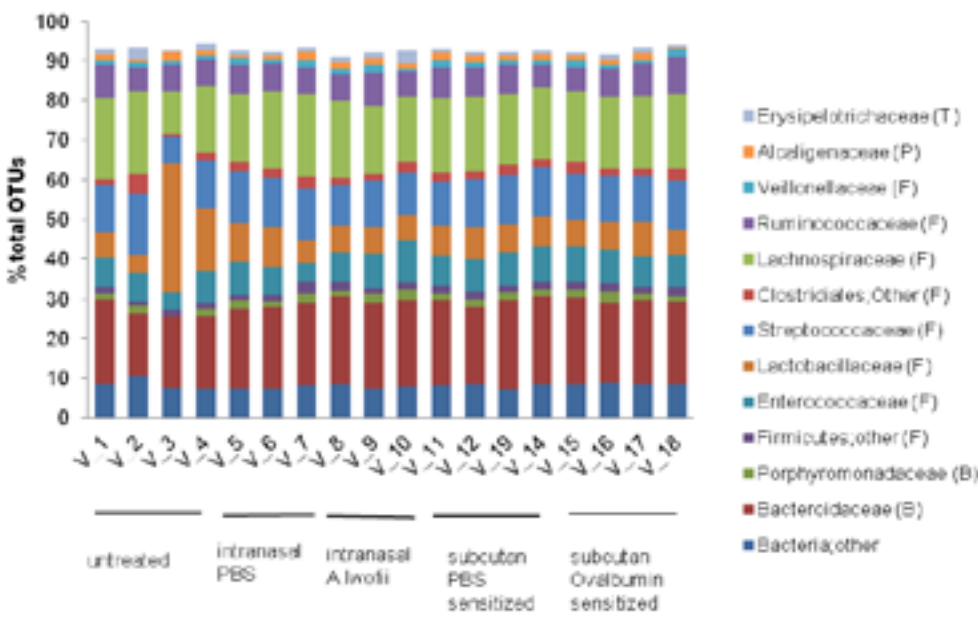


Abb. 3: Verteilung der nachgewiesenen Familien in Lungen von unbehandelten Mäusen, Acinetobacter Iwoffii behandelten und asthmatischen Tieren sowie PBS behandelten Kontrolltieren

In weiteren Versuchen, bei denen verschiedene Kompartimente der Lunge (Trachea, proximale Atemwege und distale Atemwege) von den genetisch unterschiedlichen Mausstämmen Balb/c und C57BL/6 für die Kultivierung aufbereitet wurden, konnten die meisten Mikroorganismen in der Trachea nachgewiesen werden, während in den distalen Atemwegen deutlich weniger kultivierbare Mikroorganismen vorzufinden waren. Nachgewiesen werden konnten hier Vertreter z.B. der Streptococcaceae, der Lactobacillaceae und der Proteobacteriaceae (Abb. 4). Dies stimmte weitgehend mit den Ergebnissen der Sequenzierungsanalyse überein. Im Vergleich zur vorherigen Analyse ließen sich hier Staphylococcaceae vermehrt nachweisen. Der Nachweis von Vertretern der Genera

Streptococcus, Fusobacteria, Haemophilus und Neisseria deckt sich mit den bisher bekannten Daten aus dem humanen Lungenmikrobiom, bei dem diese Genera ebenfalls häufig anzutreffen sind (Beck et al., 2012). Auch bei den Kultivierungsanalysen zeigte sich, dass Vertreter der Familie Lactobacillaceae häufig vertreten sind – besonders hervorzuheben ist hierbei die Art Lactobacillus murinus, welche sowohl in der Trachea als auch in den proximalen und distalen Atemwegen nachgewiesen werden konnte (Abb. 4). Es konnten hier bisher keine signifikanten Unterschiede zwischen Balb/c und C57BL/6 Mäusen nachgewiesen werden. Dies zeigt, dass hier der unterschiedliche genetische Hintergrund die Mikrobiomzusammensetzung nicht beeinflusst.

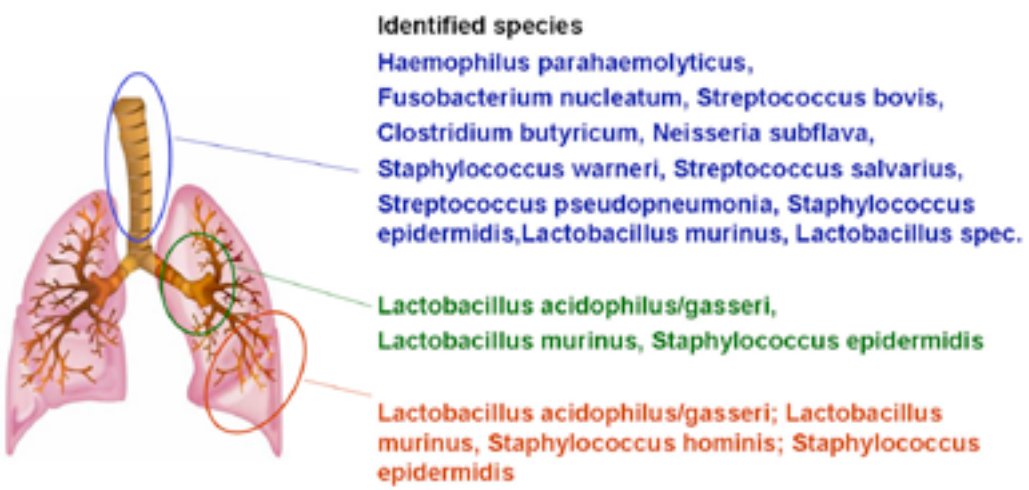


Abb. 4: Kultivierbare Keime in der Trachea (rot), den proximalen Atemwegen (grün) und den distalen Atemwegen (rot)

Die Abnahme von nachgewiesenen Spezies in den proximalen und distalen Atemwegen deutet daraufhin, dass die tieferen Atemwege von einer geringeren Anzahl an Mikroorganismen besiedelt sind als die oberen Atemwege (Trachea), welche näher mit der äußeren Umwelt in Verbindung stehen. Allerdings besteht die Möglichkeit, dass in den tieferen Atemwegen vermehrt Mikroorganismen vorhanden sind, welche nicht kultivierbar sind, somit muss dieses Ergebnis auf der Sequenzebene verifiziert werden.

Im Falle des Darmmikrobioms wurde beschrieben, dass die Keimbesiedelung zu einem sehr frühen Zeitpunkt erfolgt; z.T. sind bereits Mikroorganismen im Mekonium nachweisbar (Ardissone et al., 2014). Die weitere Besiedelung erfolgt sehr rasch und die Komplexität des Darmmikrobioms nimmt schnell zu (Adlerberth, 2008). Bei der Besiedelung des Darms und der Zusammensetzung des Mikrobioms sind Umweltfaktoren wie z.B. der Geburtsmodus (vaginal oder Kaiserschnitt) und die Ernährung von entscheidender Bedeutung (Jakobsson et al., 2014; Lee, 2013).

Um zu untersuchen, ob das Lungenmikrobiom sich ähnlich rasch entwickelt und ob diese Entwicklung abhängig ist von der Ernährung wurden zunächst Proben von 2 Wochen (vor dem Absetzen; Gesamtlunge) und 4 Wochen (nach dem Absetzen, Trachea, proximale und distale Atemwege) alten Mäuse genommen und die kultivierbaren Mikroorganismen bestimmt. Dabei zeigte sich, dass sowohl bei den zwei als auch bei den vier Wochen alten Mäusen nur eine geringe

Anzahl von Mikroorganismen nachgewiesen werden konnte. Es handelt sich hierbei überwiegend um die Arten *Lactobacillus murinus* und *Streptococcus danieliae*. Vereinzelt wurde *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus sciuri* und *Bacillus megaterium* nachgewiesen. Es konnten keine qualitativen Unterschiede zwischen den zwei und vier Wochen alten Tieren gefunden werden. Im Falle der vier Wochen alten Tiere wurden Proben von der Trachea, den proximalen und den distalen Atemwegen genommen. Auch hier konnten zu diesem Zeitpunkt keine Unterschiede detektiert werden.

Die im Vergleich zu späteren Zeitpunkten sehr geringe Komplexität des Atemwegsmikrobioms im Alter von zwei bzw. vier Wochen zeigt, dass die Besiedelung der Lunge im Vergleich zu der des Darms relativ langsam verläuft und zunächst nur wenige verschiedene Arten nachweisbar sind. Des Weiteren konnten zu diesen frühen Zeitpunkten - im Gegensatz zum adulten Tier - noch keine qualitativen Unterschiede in der Besiedelung der verschiedenen Atemwegsabschnitte detektiert werden. Zusätzlich lassen die Daten darauf schließen, dass die Ernährung als Umweltfaktor einen wesentlich geringeren Einfluss auf die Entwicklung des Lungenmikrobioms hat als auf die Entwicklung des Darmmikrobioms, da die zwischen der zweiten und vierten Woche erfolgte Nahrungsumstellung von Muttermilch auf feste Nahrung keine Auswirkung auf die Zusammensetzung der in der Lunge nachweisbaren Mikroorganismen hat.

DANKSAGUNG

Wir danken der Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik für die finanzielle Förderung des Projekts.

TAGUNG

- Cell symposia: Microbiome and host health (Lissabon 2013)
- "The murine lung microbiome is not affected by allergen or bacterial exposure" (Posterbeitrag)

LITERATUR

- Adlerberth I. Factors influencing the establishment of the intestinal microbiota in infancy. Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program. 2008;62:13-29
- Ardissone AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, Rechcigl KT, Li N, Drew JC, Murgas-Torrazza R, Sharma R, Hudak ML, Triplett EW, Neu J. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. PLoS One. 2014 Mar 10;9(3):e90784
- Beck JM, Young VB, Huffnagle GB. The microbiome of the lung. Transl Res. 2012 Oct;160(4):258-66
- Brinkman BM, Hildebrand F, Kubica M, Goossens D, Del Favero J, Declercq W, Raes J, Vandenabeele P. Caspase deficiency alters the murine gut microbiome. Cell Death Dis. 2011 Oct 20;2:e220.
- Debarry J, Garn H, Hanuszkiewicz A, Dickgreber N, Blümer N, von Mutius E, Bufe A, Gattermann S, Renz H, Holst O, Heine H. *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. J Allergy Clin Immunol. 2007 Jun;119(6):1514-21.

- Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, Björkstén B, Engstrand L, Andersson AF. Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroides* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. Gut. 2014 Apr;63(4):559-66
- Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. Diabetes. 2013 Oct;62(10):3341-9
- Lee YK. Effects of Diet on Gut Microbiota Profile and the Implications for Health and Disease. Biosci Microbiota Food Health. 2013;32(1):1-12
- Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, Glickman JN, Siebert R, Baron RM, Kasper DL, Blumberg RS. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. Science. 2012 Apr 27;336(6080):489-93
- Rabin HR, Surette MG. The cystic fibrosis airway microbiome. Curr Opin Pulm Med. 2012 Nov;18(6):622-7.
- Zakharkina T, Heinzel E, Koczulla RA, Greulich T, Rentz K, Pauling JK, Baumbach J, Herrmann M, Grünwald C, Dienemann H, von Müller L, Bals R. Analysis of the airway microbiota of healthy individuals and patients with chronic obstructive pulmonary disease by T-RFLP and clone sequencing. PLoS One. 2013 Jul 9;8(7):e68302.

VERFASSER:

Dr. Dörthe Kesper

Philipps-Universität Marburg - Fachbereich Medizin Zentrum für Tumor- und Immunbiologie (ZTI), Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie - Forschungsbereich Hans-Meerwein-Str. 3

35043 Marburg

e-mail: kesperd@staff.uni-marburg.de

Tel: +49 (0)6421-2866037

Fax: +49 (0)6421-286608

Forschungsbericht

L-Arginin, Methylarginine und andere Argininderivate als Modulatoren der Gefäßfunktion in der Gutenberg Gesundheitsstudie

Gefördert durch die Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik der DGKL

Edzard Schwedhelm^{1,2}, Ralf A. Benndorf³, Tanja Zeller^{2,4}

¹Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, ⁴Universitäres Herzzentrum Hamburg, Klinik für Allgemeine und Interventionelle Kardiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, ²Abteilung für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie, Institut für Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und ²DZHK, Standort Hamburg/Kiel/Lübeck, Deutschland

ABSTRACT

Unsere Analyse von Arginin und dessen Derivaten, Homoarginin, asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA), symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) und Monomethylarginin (NMMA) in der Gutenberg Gesundheitsstudie erlaubte uns neue Einblicke in die physiologischen und pathophysiologischen Zusammenhänge der Gefäß(dys)funktion. Alle untersuchten Argininderivate interagieren mit der Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) und haben so Einfluss auf die endothelvermittelte Vasorelaxation. Für verschiedene kardiovaskuläre Entitäten zeigten sich Unterschiede in der Plasmakonzentration der Argininderivate zwischen Patienten und Kontrollen, so z.B. für ADMA und SDMA bei KHK oder Myokardinfarkt Patienten ($p \leq 0,001$). In genomweiten Assoziationsstudien (GWA) konnten drei

Genpolymorphismen (SNPs) in verschiedenen Genen in Assoziation zu den Argininderivaten identifiziert werden. So zeigte sich für Homoarginin ein Zusammenhang zur L-Arginin: Glycin-Amidino-transferase (AGAT). Dieses Ergebnis führte zur Charakterisierung des AGAT/Homoarginin-Stoffwechsels im Tiermodell und nachfolgend zur Aufklärung seiner Bedeutung für den Schlaganfall (Choe et al. 2013).

EINLEITUNG

Trotz des großen Fortschrittes in der Therapie der kardiovaskulären Erkrankungen stellen Herzinfarkte und Schlaganfälle noch immer die häufigste Todesursache dar. Daher ist es wichtig, die genauen Ursachen und Mechanismen der zugrunde liegenden Erkrankungen zu verstehen. Bei zahlreichen

kardiovaskulären Erkrankungen wurde eine endotheliale Dysfunktion gefunden, die wiederum auf eine gestörte NO-Synthese oder verminderte NO-Wirkung zurückgeht. In mehreren epidemiologischen Untersuchungen konnten unsere und andere Arbeitsgruppen bei kardiovaskulären Erkrankungen erhöhte Plasma-Konzentrationen von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA), einem körpereigenen kompetitiven Inhibitor der NO-Synthase, nachweisen. Auch in mehreren prospektiven Studien konnte in Hochrisikokollektiven gezeigt werden, dass eine erhöhte Plasma-ADMA-Konzentration ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten und die Progression der Atherosklerose, für Myokardinfarkte und für eine erhöhte Sterblichkeit ist (Siegerink et al. 2013). Auch in einer großen, bevölkerungsbezogenen Kohorte, der Framingham-Studie, sagt ADMA das Überleben der Studienteilnehmer voraus (Böger et al. 2009). Obwohl diese Ergebnisse große Bedeutung für die Bewertung von ADMA als diagnostisch verwertbaren Risikomarker haben, beschränken sich die Erkenntnisse aus der Framingham-Studie auf eine weiße Bevölkerung mittleren Alters in den USA. Ziel dieses Forschungsprojektes war es, diese Daten an einer unabhängigen bevölkerungsbasierten deutschen Kohorte zu verifizieren und somit den diagnostischen Wert von ADMA in der deutschen Bevölkerung zur evaluieren.

METHODIK

Von 5000 Teilnehmern der Gutenberg Gesundheitsstudie wurden Bioproben (EDTA Plasma) zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses gesammelt. Die Messung der Arginin-, symmetrischen Dimethylarginin (SDMA)-, ADMA-, N-Monomethylarginin (NMMA)- und Homoarginin-Konzentrationen im Plasma erfolgte mittels zweier im Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, UKE, entwickelten LC-MS/MS-Methoden. Beide Methoden sind validiert und publiziert und wurde speziell entwickelt, um den höheren analytischen Anforderungen bei Einsatz kleiner und kleinster Probevolumina (25 µL) mit einer im Vergleich zu den bisher etablierten Meßverfahren der HPLC höheren Sensitivität gerecht zu werden (Schwedhelm et al. 2007, Atzler et al. 2011). In Querschnittsanalysen wurden die Plasmakonzentrationen von Arginin und dessen Derivaten zwischen gesunden Studienteilnehmern und Patienten verglichen. Zur Erfassung von Einflussfaktoren auf die Plasmakonzentration der Argininderivate wurde der Zusammenhang mit dem Genotyp der Studienteilnehmer durch eine Genomweite Assoziationsanalyse (GWA) untersucht. Darüber hinaus wurde die Bedeutung der Argininderivate als Biomarker der Gefäßfunktion im Vergleich zu bekannten Risikofaktoren untersucht.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Zusammen mit den 4903 Plasmaproben aus der Biobank der Gutenberg Gesundheitsstudie wurden umfangreiche Qualitätskontrollen durchgeführt. Hierzu wurden die Proben batch-weise nach einer hierfür erstellten SOP aufgearbeitet. Mit jedem batch wurden 12 Kalibratoren und 16 Qualitätskontrollproben aufgearbeitet. Die Qualitätskontrollproben enthielten jeweils 8 Proben mit niedriger und hoher Konzentration der gemessenen Analyten. Aufgrund der umfangreichen Qualitätskontrollen mussten eine Reihe von Proben mehrfach gemessen bzw. aufgearbeitet werden. Für Homoarginin erfolgte aus Kostengründen keine zweite Messung bzw. erneute Aufarbeitung. Nach der Qualitätskontrolle und Messwiederholung lagen für Arginin 4902 Messwerte vor. Für ADMA, SDMA und NMMA konnten 4887, 4891 bzw. 4897 Messwerte in die statistische Analyse eingehen. Für Homoarginin ergaben sich 3762 Messwerte nach Qualitätskontrolle und ohne Messwiederholung.

ANALYSE DER EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE HÖHE DER PLASMAKONZENTRATIONEN VON ARGININ, ADMA UND ANDEREN METHYLARGININEN, MIT DEM SCHWERPUNKT AUF DEN EINFLUSSFAKTOREN DIE IN DER GUTENBERG GESUNDHEITSSTUDIE ALS RISIKOFAKTOREN DER KARDIOVASKULÄREN ERKRANKUNGEN ERFASST WERDEN.

In verschiedenen statistischen Modellen wurde untersucht, welche Vorerkrankungen

Einfluss auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der untersuchten Metabolite haben. Dazu wurden die Plasmakonzentrationen der vermessenen Kohorte (Gesamtstichprobe, Tabellen 1 und 2) für Teilnehmer mit und ohne kardiovaskuläre Vorerkrankung verglichen. In der Gesamtstichprobe waren die Werte für Arginin und ADMA normalverteilt, während diejenigen für SDMA, NMMA und Homoarginin nicht normalverteilt waren. Für Arginin und ADMA wurden in den nachfolgenden Analysen daher die Mittelwerte und SD angegeben, für die anderen Argininderivate der Median und das 25igste und 75igste Perzentil. Statistische Signifikanz möglicher Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurde mit dem Wilcoxon Test berechnet.

KHK

Für Arginin waren die Mittelwerte der Studienteilnehmer mit (n=224) und ohne KHK (n=4612) nicht unterschiedlich. Ein Trend zu höheren Homargininwerten zeigte sich für die Studienteilnehmer mit (n=173) gegenüber denjenigen ohne KHK (n=3546, p=0,04). Ebenfalls leicht höhere NMMA-Werte zeigten sich für die Studienteilnehmer mit (n=224) gegenüber denjenigen ohne KHK (n=4608, p=0,014). Für ADMA lag die mittlere Plasmakonzentration der Studienteilnehmer mit KHK mit 0,54 ±0,10 µM (n=223) über derjenigen, die für die Studienteilnehmer ohne KHK gemessen wurde (0,52 ±0,10 µM, n=4599, p<0,001). Für SDMA lag der Median der Plasmakonzentration der Studienteilnehmer mit

	Alle (N=4902)	Männer (N=2497)	Frauen (N=2405)
Männer (%)	2497 (50.9%)	2497 (100%)	0 (0%)
Alter (Jahre)	55.6±11	56.1±10.9	55±11
Cardiovaskuläre Risikofaktoren			
Adipositas (BMI>30 kg/m ²) (%)	1188 (24.2%)	636 (25.5%)	552 (23%)
Aktive Raucher (%)	933 (19.1%)	514 (20.6%)	419 (17.5%)
Diabetes (%)	372 (7.6%)	247 (9.9%)	125 (5.2%)
Dyslipidämie (%)	1438 (29.3%)	909 (36.4%)	529 (22%)
Hypertonus (%)	2523 (51.5%)	1406 (56.3%)	1117 (46.5%)
Familienanamnese MI (%)	867 (17.7%)	423 (16.9%)	444 (18.5%)
Vorerkrankungen			
KHK (%)	224 (4.6%)	172 (7%)	52 (2.2%)
MI (%)	154 (3.2%)	118 (4.7%)	36 (1.5%)
AF (%)	159 (3.3%)	114 (4.6%)	45 (1.9%)
Schlaganfall (%)	92 (1.9%)	57 (2.3%)	35 (1.5%)
Klinische Parameter			
Body mass index (kg/m ²)	26.55 (23.92, 29.82)	27.21 (24.89, 30.07)	25.66 (22.88, 29.52)
Systolischer Blutdruck (mmHg)	132.8±17.7	135.5±16.7	130±18.1
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	83.2±9.5	84.5±9.6	81.8±9.2
PAT-Ratio	0.5±0.4	0.4±0.4	0.7±0.5
Durchmesser FMD (mm)	4.3±0.8	4.9±0.6	3.7±0.6
Mittlere IMT ACC (mm)	0.7±0.1	0.7±0.1	0.6±0.1
Biomarker			
Glucose (mg/dl)	91.21 (86, 98.21)	93 (87.21, 101)	90 (84.21, 96)
HDL (mg/dL)	56.4±15.8	49.7±13	63.4±15.4
LDL (mg/dL)	142.2±35.5	141.2±35.1	143.2±36
Creatinin (mg/dL)	0.88 (0.79, 0.98)	0.96 (0.89, 1.04)	0.8 (0.74, 0.87)
eGFR (ml/min for 1.73m ²)	83.52 (74.94, 92.2)	86.86 (78.53, 95.62)	80.13 (72.14, 88.22)
hsCRP (mg/L)	1.7 (0.5, 3.3)	1.6 (0.5, 3.1)	1.7 (1, 3.7)
Arginin (µM)	75.8±20.1	77.6±20.3	73.8±19.8
ADMA (µM)	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
SDMA (µM)	0.43 (0.37, 0.5)	0.45 (0.38, 0.52)	0.41 (0.35, 0.48)
NMMA (µM)	0.13 (0.1, 0.15)	0.13 (0.11, 0.15)	0.12 (0.1, 0.15)
Homoarginin (µM)	1.96 (1.53, 2.52)	2.11 (1.68, 2.68)	1.78 (1.39, 2.3)

Tabelle 1: Charakteristika der Studienteilnehmer für die mindestens Arginin oder ein Argininderivat (ADMA, SDMA, NMMA) verfügbar war

	Alle (N=4902)	Männer (N=2497)	Frauen (N=2405)
Männer (%)	1947 (51.8%)	1947 (100%)	0 (0%)
Alter (Jahre)	55.6±10.9	56.2±10.8	55±11.1
Cardiovasculäre Risikofaktoren			
Adipositas (BMI>30 kg/m²) (%)	907 (24.1%)	500 (25.7%)	407 (22.4%)
Aktive Raucher (%)	693 (18.5%)	400 (20.6%)	293 (16.2%)
Diabetes (%)	290 (7.7%)	195 (10%)	95 (5.2%)
Dyslipidämie (%)	1059 (28.1%)	695 (35.7%)	364 (20.1%)
Hypertonus (%)	1953 (51.9%)	1105 (56.8%)	848 (46.7%)
Familienanamnese MI (%)	678 (18%)	342 (17.6%)	336 (18.5%)
Vorerkrankungen			
KHK (%)	173 (4.7%)	133 (6.9%)	40 (2.2%)
MI (%)	106 (2.8%)	82 (4.2%)	24 (1.3%)
AF (%)	125 (3.3%)	91 (4.7%)	34 (1.9%)
Schlaganfall (%)	74 (2%)	48 (2.5%)	26 (1.4%)
Klinische Parameter			
Body mass index (kg/m²)	26.57 (23.95, 29.81)	27.23 (24.87, 30.12)	25.71 (22.92, 29.48)
Systolischer Blutdruck (mmHg)	133.2±17.7	135.8±16.6	130.3±18.5
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	83.4±9.6	84.7±9.6	81.9±9.3
PAT-Ratio	0.5±0.5	0.4±0.4	0.7±0.5
Durchmesser FMD (mm)	4.3±0.8	4.9±0.6	3.7±0.6
Mittlere IMT ACC (mm)	0.7±0.1	0.7±0.1	0.6±0.1
Biomarker			
Glucose (mg/dl)	92 (86, 98.21)	93.21 (87.21, 101)	90 (84.21, 96)
HDL (mg/dL)	56.5±15.9	49.8±13	63.6±15.7
LDL (mg/dL)	142±35.3	141.8±34.9	142.2±35.8
Creatinin (mg/dL)	0.88 (0.79, 0.97)	0.96 (0.88, 1.03)	0.79 (0.73, 0.86)
eGFR (ml/min for 1.73m²)	83.8 (75.16, 92.82)	87.28 (79.1, 96.4)	80.19 (72.4, 88.51)
hsCRP (mg/L)	1.7 (0.5, 3.4)	1.6 (0.5, 3.1)	1.75 (1, 3.7)
Arginin (µM)	76.1±20.7	77.9±20.8	74.2±20.4
ADMA (µM)	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
SDMA (µM)	0.45 (0.39, 0.52)	0.47 (0.41, 0.54)	0.44 (0.38, 0.5)
NMMA (µM)	0.13 (0.11, 0.15)	0.13 (0.11, 0.15)	0.13 (0.1, 0.15)
Homoarginin (µM)	1.96 (1.53, 2.52)	2.11 (1.68, 2.68)	1.78 (1.39, 2.3)

Tabelle 2: Charakteristika der Studienteilnehmer für die Homarginin verfügbar war

KHK mit 0,47 [IQR: 0,41, 0,55] µM, n=223 über demjenigen, der für die Studienteilnehmer ohne KHK gemessen wurde (0,43 [0,37, 0,50] µM, n=4603, p<0,001).

DIABETES

Für SDMA, NMMA und Homoarginin fanden sich keine unterschiedlichen Plasmakonzentrationen für Studienteilnehmer mit und ohne Diabetes. Für Studienteilnehmer mit Diabetes lag die mittlere Argininkonzentration mit 68,2 ± 19,5 µM (n=372) deutlich unter derjenigen für Studienteilnehmer ohne Diabetes (76,4 ± 20,1 µM, p<0,001, n=4529). Im Gegensatz dazu lag die mittlere ADMA-Konzentration mit 0,53 ± 0,10 µM (n=371) für Patienten mit Diabetes über der mittleren ADMA-Konzentration der Studienteilnehmer ohne prävalenten Diabetes (0,52 ± 0,10 µM, p<0,01, n=4515).

DYSLIPIDÄMIE

Patienten mit Dyslipidämie hatten sowohl höhere Arginin- als auch Homoargininplasmakonzentrationen. Für Arginin war sie mit 77,2 ± 20,4 µM (n=1438) leicht erhöht gegenüber Probanden ohne Dyslipidämie (75,2 ± 20,0 µM, p<0,01, n=3463). Für Homoarginin lag der Median mit 2,11 [1,64, 2,66] µM (n=1059) deutlich über dem Median der Probanden ohne Dyslipidämie (1,91 [1,50, 2,45] µM, p<0,001, n=2703). Methylierte Arginin-derivate zeigten ebenfalls einen Trend bzw. leicht höhere Werte bei Probanden mit Dyslipidämie. ADMA: 0,53 ± 0,10 µM (n=1431) vs

0,51 ± 0,10 µM (n=3449), p<0,001; SDMA: 0,44 [0,37, 0,50] (n=1437) vs 0,43 [0,37, 0,50] (n=3453), p=0,07; NMMA: 0,13 [0,11, 0,15] (n=1438) vs 0,43 [0,37, 0,50] (n=3459), p<0,01.

MYOKARDINFARKT

Sowohl für das Dimethylarginin-Derivat ADMA als auch SDMA waren die Plasmakonzentrationen bei prävalentem Myokardinfarkt leicht erhöht. Für ADMA lag die mittlere Plasmakonzentration für Studienteilnehmer mit Myokardinfarkt bei 0,54 ± 0,10 µM (n=154) und ohne Myokardinfarkt bei 0,52 ± 0,10 µM (n=4715), p=0,001. Für SDMA lag der Median der Plasmakonzentration für Studienteilnehmer mit Myokardinfarkt bei 0,47 [0,40, 0,54] (n=154) und ohne Myokardinfarkt bei 0,43 [0,37, 0,50] (n=4719), p<0,001. Für NMMA und Homoarginin zeigte sich lediglich ein Trend in die gleiche Richtung (p>0,05). Für Arginin war die Plasmakonzentration etwas niedriger für Teilnehmer mit Myokardinfarkt (p=0,04).

VORHOFFLIMMERN

Alle Studienteilnehmer mit Vorhofflimmern hatten höhere Methylarginin-Konzentrationen als die Kontrollen. ADMA: 0,56 ± 0,11 µM (n=158) vs 0,52 ± 0,10 µM (n=4692), p<0,001; SDMA: 0,48 [0,39, 0,57] (n=158) vs 0,43 [0,37, 0,50] (n=4696), p<0,001; NMMA: 0,14 [0,12, 0,16] (n=159) vs 0,13 [0,10, 0,15] (n=4702), p<0,001. Für Arginin war die Plasmakonzentration etwas niedriger

für Teilnehmer mit Vorhofflimmern ($p=0,03$). Für Homoarginin fand sich kein Unterschied ($p=0,67$).

SCHLAGANFALL

In einer weiteren Analyse wurde der Einfluss der Prävalenz von Schlaganfällen auf die Plasmakonzentrationen der Argininderivate untersucht. Insgesamt war die Prävalenz des Schlaganfalls mit unter 100 Individuen in der untersuchten Kohorte sehr gering. Trotz der kleinen Stichprobe waren die Methylarginin-Konzentrationen bei Schlaganfall-Patienten signifikant erhöht. ADMA: $0,54 \pm 0,10 \mu\text{M}$ ($n=91$) vs $0,52 \pm 0,10 \mu\text{M}$ ($n=4773$), $p<0,01$; SDMA: $0,46 [0,40, 0,55]$ ($n=91$) vs $0,43 [0,37, 0,50]$ ($n=4777$), $p<0,001$; NMMA: $0,14 [0,12, 0,16]$ ($n=92$) vs $0,13 [0,10, 0,15]$ ($n=4783$), $p<0,001$. Für Arginin und für Homoarginin waren die gemessenen Plasmakonzentration in Abhängigkeit von prävalentem Schlaganfall nahezu identisch ($p>0,9$).

ANALYSE DES ZUSAMMENHANGES UND DES PRÄDIKTIVEN WERTES VON ADMA, ANDEREN METHYLARGININEN UND ARGININDERIVATEN MIT DER SUBKLINISCHEN MANIFESTATION DER ATHEROSKLEROSE

Unter den gemessenen Argininderivaten zeigte ADMA den stärksten Zusammenhang zur subklinischen Manifestation der Atherosklerose (IMT, Aortenplaques). Hierzu wurden ROC-Kurven für klassische Risikofaktoren und mit neuen Biomarkern analysiert und verglichen (Sinning et al. 2014). Gegenüber

den klassischen Risikofaktoren zeigte sich jedoch kein zusätzlicher Informationsgewinn für das Modell mit neuen Biomarkern, darunter ADMA.

GWA- UND EXPRESSION QUANTITATIVE TRAIT LOCI (EQTL)-UNTERSUCHUNGEN MIT ARGININ, METHYLARGININEN UND ARGININDERIVATEN

Für Homoarginin zeigt sich ein Zusammenhang zu SNPs des Gens für die L-Arginin: Glycin-Amidino-transferase (AGAT, Choe et al. 2013). Dieses Ergebnis führte zur Charakterisierung des AGAT/Homarginin-Stoffwechsels im Tiermodell und nachfolgend zur Aufklärung seiner Bedeutung für den Schlaganfall (Choe et al. 2013). Für ADMA zeigt sich ein Zusammenhang zu SNPs des Gens für die Dimethylarginin Dimethylaminhydrolyase 1 (DDAH1, Abbildung 1). Für SDMA zeigt sich ein Zusammenhang zu SNPs des Gens für die Alanin-Glyoxylate aminotransferase 2 (AGXT2, Abbildung 2). Für Arginin und NMMA fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zu Genpolymorphismen. Die Expressionsanalyse (eQTL) zeigt für Homoarginin einen signifikanten Zusammenhang zu 18 Genprodukten (mRNA) verschiedener Stoffwechselwege. Die eQTL-Analyse zeigt für NMMA einen signifikanten Zusammenhang zum Genprodukt des Leucine Zipper EF Hand-containing Transmembrane Protein 1 (LETM1). Dieses Protein ist für die mitochondriale Ca^{2+} -Aufnahme in Endothelzellen

mitverantwortlich und könnte eine Rolle in der Pathophysiologie von Gefäßerkrankungen spielen (Waldeck-Weiermair et al. 2011). Für die weiteren Argininderivate fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zu Genprodukten.

ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Für verschiedene kardiovaskuläre Entitäten zeigten sich Unterschiede in der Plasmakonzentration der Argininderivate zwischen Patienten und Kontrollen, so z. B. für ADMA und SDMA bei KHK oder Myokardinfarkt Patienten ($p\leq 0,001$). In GWA- und eQTL-Untersuchungen konnten drei verschiedene Gene identifiziert werden, die mit den Argininderivaten ADMA, SDMA und Homoarginin assoziiert sind, darunter die AGAT, deren Bedeutung für den Homoarginin-Stoffwechsel im Menschen bisher nicht bekannt war. In zukünftigen Analysen soll die prognostische Bedeutung der Argininderivate für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen sowie die Morbidität und Mortalität der Studienteilnehmer der Gutenberg Gesundheitsstudie untersucht werden.

DANKSAGUNG

Die vorliegenden Ergebnisse wurden mit Unterstützung der Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik erzielt. Darüber hinaus gilt der besondere Dank den Studienteilnehmern der Gutenberg Gesundheitsstudie.

RESULTIERENDE PUBLIKATIONEN

- Choe CU, Atzler D, Wild PS, Carter AM, Böger RH, Ojeda F, Simova O, Stockebrand M, Lackner K, Nabuurs C, Marescau B, Streichert T, Müller C, Lüneburg N, De Deyn PP, Benndorf RA, Baldus S, Gerloff C, Blankenberg S, Heerschap A, Grant PJ, Magnus T, Zeller T, Isbrandt D, Schwedhelm E. Homoarginine levels are regulated by L-arginine:glycine amidinotransferase and affect stroke outcome: results from human and murine studies. *Circulation*. 2013;128:1451-61.
- Sinning C1, Kieback A, Wild PS, Schnabel RB, Ojeda F, Appelbaum S, Zeller T, Lubos E, Schwedhelm E, Lackner KJ, Debus ES, Munzel T, Blankenberg S, Espinola-Klein C. Association of multiple biomarkers and classical risk factors with early carotid atherosclerosis: results from the Gutenberg Health Study. *Clin Res Cardiol*. 2014;103:477-85.

REFERENZEN

- Atzler D, Mieth M, Maas R, Böger RH, Schwedhelm E. Stable isotope dilution assay for liquid chromatography-tandem mass spectrometric determination of L-homoarginine in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011;879:2294-8.
- Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, Schulze F, Xanthakis V, Benndorf RA, Vasani RS. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation*. 2009;119:1592-600.
- Schwedhelm E, Maas R, Tan-Andresen J, Schulze F, Riederer U, Böger RH. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007;851(1-2):211-9.
- Siegerink B, Maas R, Vossen CY, Schwedhelm E, Koenig W, Böger R, Rothenbacher D, Brenner H, Breitling LP. Asymmetric and symmetric dimethylarginine and risk of secondary cardiovascular disease events and mortality in patients with stable coronary heart disease: the KAROLA follow-up study. *Clin Res Cardiol*. 2013;102:193-202.

- Waldeck-Weiermair M, Jean-Quartier C, Rost R, Khan MJ, Vishnu N, Bondarenko AI, Imamura H, Malli R, Graier WF. Leucine zipper EF hand-containing transmembrane protein 1 (Letm1) and uncoupling proteins 2 and 3 (UCP2/3) contribute to two distinct mitochondrial Ca²⁺ uptake pathways. J Biol Chem. 2011;286:28444-55.

VERFASSTER:

PD Dr. Edzard Schwedhelm
Institut für Klinische Pharmakologie
und Toxikologie
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistr. 52
20246 Hamburg

Forschungsbericht

Next Generation Sequencing-gestützte Dreilini-Transkriptomanalyse von myeloiden und lymphoiden variablen Immunrezeptoren

Gefördert durch die Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik der DGKL

Wolfgang E. Kaminski¹, Tina Fuchs²

¹ Bioscientia Institut für Medizinische Diagnostik GmbH, Konrad-Adenauer-Straße 17, 55218 Ingelheim; ² Institut für Klinische Chemie, Fakultät für Medizin Mannheim, Universität Heidelberg, Theodor-Kutzer-Ufer 1-3, 68167 Mannheim

ABSTRACT

Vor kurzem gelang uns der Nachweis eines T Zellrezeptor (TZR)-basierten flexiblen Immunrezeptors in Neutrophilen und Monozyten. Mittels semiquantitativer Dreilini-Immunrepertoire-Hochdurchsatzsequenzierung wiesen wir in peripherem Blut hochkomplexe TZRβ Transkriptome in humanen Neutrophilen und Monozyten nach, die im Vergleich zu T-Zellen eine bzw. zwei Zehnerpotenzen geringere Diversität aufweisen. Der Vergleich der TZRβ Transkriptome innerhalb eines Individuums zeigt, dass Neutrophile, Monozyten und T-Zellen jeweils individuelle Repertoires exprimieren. Diese Ergebnisse dokumentieren die beachtliche Komplexität der von Neutrophilen und Monozyten exprimierten beiden variablen Immunsysteme, die bisher im Schatten der T-Zellen verborgen waren.

EINLEITUNG

Die adaptive Immunität von Säugetieren fußt auf zwei rekombinatorischen Immunrezeptorsystemen - den Immunglobulinen und dem T Zellrezeptor (TZR). Ein seit Jahrzehnten akzeptiertes Dogma besagt, dass variable Immunabwehr in höheren Vertebraten ausschließlich auf Lymphozyten beschränkt ist (1,2). In kürzlich veröffentlichten Arbeiten gelang uns der Nachweis, dass Neutrophile (3,4) und Monozyten/ Makrophagen (5) im Menschen und der Maus einen flexiblen T Zellrezeptor-basierten Immunrezeptor exprimieren. Wir konnten außerdem zeigen, dass Neutrophile und auch Makrophagen die alternative Variante des TZR, den TZRγδ exprimieren, der aus der γ und δ Antigenbindestelle besteht (3,6). Weiterhin konnten wir nachweisen, dass der flexible Neutrophilen-Immunrezeptor der Immunoseneszenz unterliegt (7) und der TZRαβ sowohl in

Neutrophilen als auch in Makrophagen bei Krankheiten eine Rolle spielt (5,8). Unsere Ergebnisse konnten im Anschluss durch Arbeiten untermauert werden, in denen die Existenz funktioneller TZR $\gamma\delta$ in zirkulierenden Eosinophilen (9) gesunder Probanden, die TZR β Expression von Neutrophilen in der Mundhöhle (10), sowie genomisches TZR β Rearrangement in Granulozyten von Mäusen nachgewiesen wurden (11). Diese Ergebnisse bilden die Grundlage des von uns nunmehr postulierten Konzepts der „extralymphozytären flexiblen Immunabwehr“ (12,13).

In dieser Studie haben wir einen globalen Vergleich der TZR β Transkriptome von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen unter Anwendung der Hochdurchsatzsequenzierung in einer Kohorte von fünf gesunden Spendern durchgeführt. Next-Generation Sequencing, das den Nachweis von kleinsten mRNA Mengen mit gleichzeitiger Bestimmung von Millionen an Sequenzen ermöglicht, bietet eine technologische Plattform für die Analyse von Transkriptomen mit beispielloser Auflösung (14). Für diesen Sequenzierungsansatz wurde eine Methode angewendet, die speziell für die Analyse von hypervariablen CDR3 Regionen von T Zellrezeptoren optimiert wurde. Dieser Ansatz verbindet die Amplicon rescued multiplex (ARM)-PCR mit der Hochdurchsatzsequenzierung (15). Die ARM-PCR ist eine Multiplex-RT-PCR Technik, die den PCR Bias reduziert, und die Identifizierung von Einzeltranskripten sowie den

semiquantitativen Nachweis von Transkripthäufigkeiten erlaubt. Wir haben außerdem eine neue Strategie für die bioinformatische Datenanalyse entwickelt (SMART), die unter rigorosen Bedingungen Next-Generation Sequencing-Artefakte entfernt (16).

Unsere Ergebnisse zeigen erstmals einen globalen Vergleich der TZR β Transkriptome, die von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen exprimiert werden, sowohl zwischen den einzelnen Zelllinien als auch den individuellen Spendern.

METHODIK

STUDIENKOHORTEN

Eine Kohorte von gesunden Erwachsenen (n=5) wurde auf Zufallsbasis rekrutiert. Ausschlusskriterien für die Kohorte waren: klinische oder labordiagnostische Zeichen einer akuten Entzündung oder Infektion, primäre hämatologische Erkrankungen, immunsuppressive Therapie sowie erworbene oder angeborene Formen der Immundefizienz. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Mannheim genehmigt (Permit Number: 2007-254N-MA). Eine Einwilligungserklärung zur Studie wurde von allen Studienteilnehmern unterschrieben.

ZELLAUFREINIGUNG UND DURCHFLUSSZYTOMETRIE

CD15+ Neutrophile, CD14+ Monozyten und CD3+ T-Lymphozyten wurden mittels Dichtegradientenzentrifugation aus frischem

venösem Blut angereichert und anschließend via CD15+/-, CD14+/- bzw. CD3+/-MACS auf >99,1% Reinheit isoliert. Die einzelnen Leukozytensubpopulationen wurden dabei bei jedem Spender aus derselben Blutabnahme isoliert. Die Zellreinheit wurde mittels Durchflusszytometrie bestimmt und erfolgte an einem FACSCalibur Zytometer. Alle isolierten Zellpopulationen wurden nach der Aufreinigung direkt in RNeasy Protect (Qiagen) resuspendiert.

RNA ISOLATION UND ARM-PCR

Die Isolation der RNA erfolgte für alle Zellpopulationen mit dem RNeasy Mini Kit (Qiagen). Anschließend wurden die RNA mit dem One-Step RT-PCR Kit (Qiagen) mit spezifischen TZR β Primern in cDNA umgeschrieben. Die TZR β Transkriptome wurden im Anschluss mittels ARM-PCR mit dem Multiplex PCR Kit (Qiagen) unter der Verwendung von genesteten TZR β -spezifischen Primern amplifiziert. Die Technik der amplicon rescued multiplex (ARM)-PCR ist eine semiquantitative Methode, bei der universelle Primer in der exponentiellen Phase der PCR eingesetzt werden, um PCR Artefakte zu minimieren (15).

NEXT-GENERATION SEQUENCING

Die Hochdurchsatzsequenzierung der CDR3 Regionen wurde mit einem HiSeq2000 DNA Sequencer (Illumina) unter Verwendung von Standard Illumina Sequenzierungsprotokollen durchgeführt. Die

Sequenzrohdaten wurden in der NCBI SRA Datenbank (SRA060019) hinterlegt.

DATENANALYSE DER TZRB

IMMUNREPERTOIRE SEQUENZEN

Für die bioinformatische Auswertung der Sequenzen wurden zunächst die Gegenstrangsequenzen zusammengefügt und die Rohsequenzen den V,D und J Referenzsequenzen zugeordnet (12). Im Anschluss wurden die Grenzen der CDR3 Regionen festgelegt und die Sequenzen dem bioinformatischen SMART Filter unterzogen. Mit Hilfe dieses Datenfilters werden >99% der fehlerhaften Sequenzen des Immunrepertoires ermittelt und entfernt. Zudem wurden alle TZR β CDR3 Sequenzen, die als Einzelkopie vorliegen, eliminiert.

ERGEBNISSE

ZIRKULIERENDE NEUTROPHILE UND MONOZYTEN EXPRIEMEN DISTINKTE UND HOCH KOMPLEXE TZRB TRANSKRIPTOME

Wir führten ARM-PCR basierte Hochdurchsatz TZR β Transkriptom-Sequenzierungen bei einer Kohorte von fünf kaukasischen Individuen (2 Männer, 3 Frauen, Altersbereich: 26-48 Jahre) durch, um einen detaillierten globalen Überblick über die Bandbreite der TZR β Diversität von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen im peripheren Blut zu bekommen. Wir beschränkten uns auf die Analyse des TZR β Transkriptoms, weil die CDR3 Sequenzen der β -Kette für die

Antigenbindestelle des reifen TZR β Komplexes kodiert.

Hochreine CD15+ Neutrophile, CD14+ Monozyten und CD3+ T Lymphozyten wurden jeweils aus einer einzigen Blutabnahme jedes Spenders über Dichtegradientenzentrifugation und linienspezifische MACS-Separation isoliert. Der Mittelwert der Zellzahl der aufgereinigten Leukozyten Subpopulationen lag bei $8,6 \times 10^6 \pm 2,5 \times 10^6$ ($n=15$) und die Zellreinheiten wurden mittels Durchflusszytometrie auf >99.1% bestimmt, mit Ausnahme einer Monozytenfraktion, bei der die Reinheit bei 96% CD14+ Zellen lag (Donor 3). Eine zusätzliche Kontroll-PCR der linienspezifischen

Marker ergab keine erkennbare Kreuzkontamination zwischen den drei Leukozytenlinien.

Unsere Sequenzierung mit anschließender bioinformatisch hochstringenter Datenfilterung ergab ca. 41740000 effektive Reads, von denen ca. 41300000 als TZR β CDR3 Reads erkannt wurden. Anschließend wurde ein weiterer Datenfilter verwendet, bei dem alle Einzelkopien von TZR β Varianten ausgeschlossen wurden, so dass am Ende 1431472 spezifische TZR β CDR3 Varianten aus den drei Leukozyten Subpopulation der fünf Spender ermittelt werden konnten.

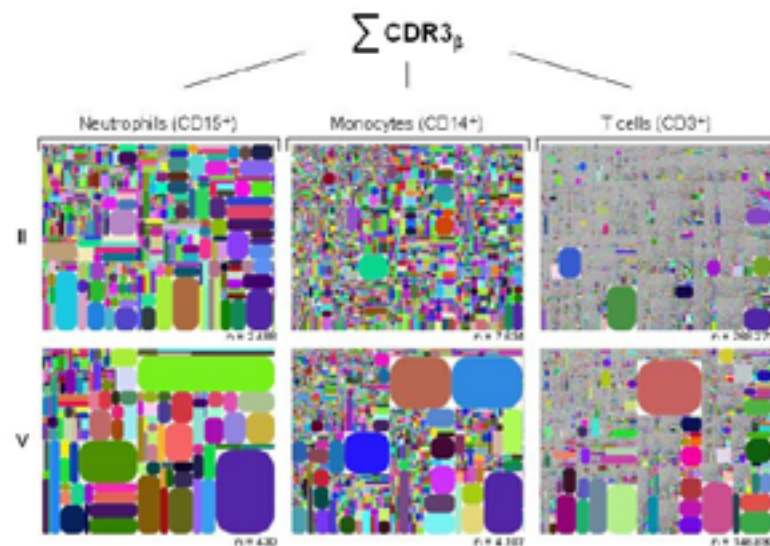


Abb 1:

Die „Diversity Tree Plots“ veranschaulichen die relative Menge an TZR β CDR3 Transkriptvarianten, die von humanen zirkulierenden CD15+ Neutrophilen, CD14+ Monozyten und CD3+ T Zellen exprimiert werden. Es sind repräsentativ zwei gesunde Spender (II und V) gezeigt, deren Leukozyten Subpopulationen aus einer einzigen Blutabnahme isoliert wurden.

Jeder Punkt im Schaubild steht für ein rearrangiertes TZR β Transkript, das für eine einzigartige CDR3 β Sequenz kodiert. Die einzelnen Punkte sind über eine individuelle Farbkodierung definiert und die Größe der Punkte ist jeweils proportional zur relativen Transkripthäufigkeit. Die Position der einzelnen Punkte innerhalb der Schaubilder wird über die V β Nutzung (x-Achse: V β 1-V β 11) und J β Nutzung (y-Achse: J β 1-J β 11) festgelegt. Die Gesamtzahl der einzelnen redundanzfreien TZR β CDR3 Sequenzvarianten sind für jeden „Diversity Tree Plot“ angegeben. CDR3, complementarity determining region 3.

Wir entwickelten einen Software-Algorithmus, der es erlaubt, die Repertoire Diversität, die V-J Nutzung und die Frequenz der individuellen CDR3 Transkript Varianten zu veranschaulichen. Unter Verwendung dieser „Diversity Tree Plots“ ergab der Vergleich der TZR β Transkriptome der drei Zelllinien ein spezifisches Muster für jede Leukozytenpopulation in jedem untersuchtem Spender (Abb. 1). Es wurde eine unerwartet hohe Repertoire Diversität bei den Neutrophilen und Monozyten Fraktionen aller Spender festgestellt. Der Mittelwert der exprimierten einzigartigen CDR3 β Varianten betrug jeweils 842 ± 845 (CD15+, $n=5$), 5615 ± 1428 (CD14+, $n=4$) und 276150 ± 70572 (CD3+, $n=5$) (Abb.

2). Die Repertoire Diversität bewegte sich jeweils zwischen 207 - 2488 (CD15+), 4107 - 7634 (CD14+, $n=4$) und 146890 - 348533 (CD3+) spezifischer TZR β CDR3 Sequenzen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass die TZR β Repertoire Diversität von T Zellen im peripheren Blut, die bisher nur von einzelnen Individuen in Proof-of-Concept Studien untersucht wurde, im Durchschnitt weniger als 5×10^5 Varianten beträgt. Zudem zeigen sie, dass das durchschnittliche TZR β Repertoire von Neutrophilen und Monozyten aus 10^3 - 10^4 Varianten besteht und daher im Vergleich zu den T Zellen jeweils ein bzw. zwei Zehnerpotenzen kleiner ist.

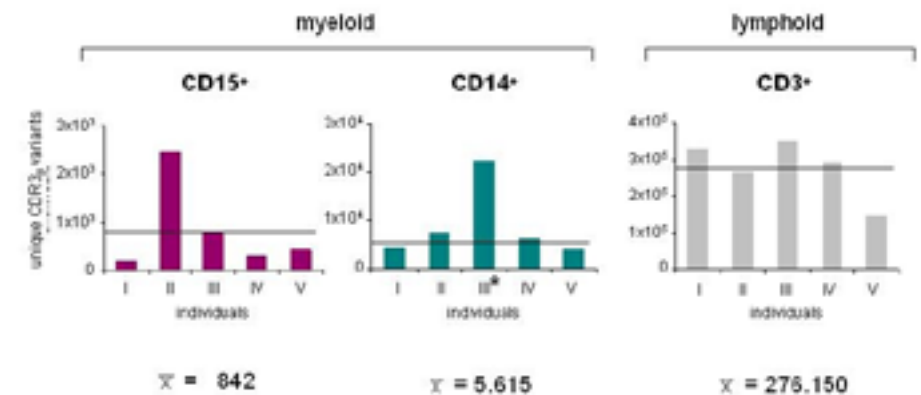


Abb 2:

Übersicht über die einzigartigen TZR β CDR3 Varianten, die von Neutrophilen, Monozyten und T Lymphozyten aus dem peripheren Blut von fünf gesunden Spendern (I-V) exprimiert werden. Unterhalb der Schaubilder steht der Mittelwert der exprimierten TZR β CDR3 Varianten für jede Zelllinie. In den Säulendiagrammen sind die Mittelwerte als horizontale Linie eingezeichnet. Die Ergebnisse der CD14+ Monozyten von Spender II (* Stern) wurden in der statistischen Analyse nicht berücksichtigt, da die Probe signifikant mit CD3+ T Zellen kontaminiert war.

DER GRÖSSTE TEIL DER VON NEUTROPHILEN, MONOZYTEN UND T ZELLEN EXPRIMIERTEN TZRβ VARIANTEN SIND LINIEN-SPEZIFISCH

Als nächstes untersuchten wir, ob und inwieweit das TZRβ Transkriptom von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen gemeinsame TZRβ Varianten aufweist. Um diese gemeinsamen CDR3 Sequenzen zu bestimmen, führten wir paarweise bioinformatische Vergleiche der Transkriptome aller drei Leukozyten Linien durch. In allen Vergleichen betrug der durchschnittliche Prozentsatz von linien-spezifischen CDR3 Varianten 87,2% (Abb. 3). Das zeigt, dass in gesunden Individuen der größte Anteil von CDR3 Varianten im peripheren Blut linienspezifisch sind. Ausserdem fanden wir bei allen Spendern, dass sowohl Neutrophile als auch Monozyten jeweils mehr Repertoire Gemeinsamkeiten mit T Zellen haben (31,6 ±10,3 and 26,9

±7,1) als untereinander (8,6 ±9,1, p<0,01). Da unser ARM-PCR basierter Transkriptom Sequenzierungsansatz eine semiquantitative Technik ist, würde man erwarten, dass die Rangordnung der am häufigsten exprimierten CDR3 Varianten der kontaminierenden Zellen proportional in einer Zellfraktion abgebildet wird. Paarweise Vergleiche der zehn am häufigsten exprimierten CDR3 Varianten in jeder der drei Zelllinien zeigten allerdings keine derartigen Kreuzkontaminierungs-Effekte (Abb. 4).

Diese Ergebnisse zeigen, dass die CDR3 Varianten, die Neutrophile, Monozyten und T Zellen gemeinsam nutzen, tatsächlich eine authentische unabhängige Koexpression darstellen. Allerdings können geringfügige Kreuzkontaminierungseffekte nicht vollständig ausgeschlossen werden.

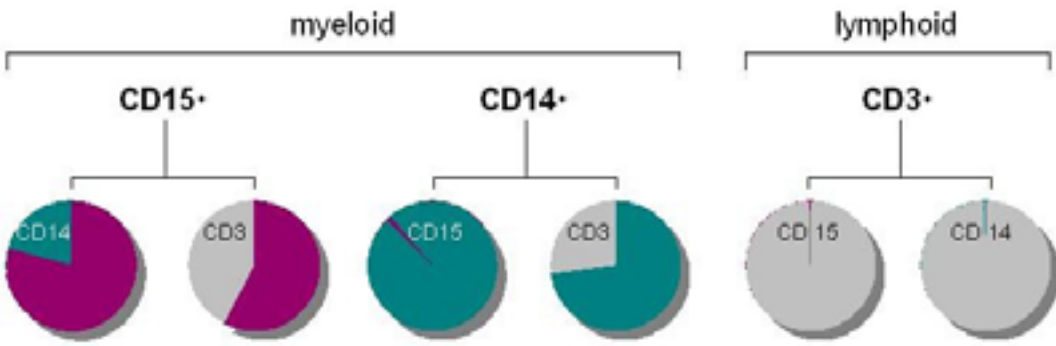


Abb 3: Paarweiser Vergleich der TZRβ Repertoire Transkriptome zwischen den einzelnen Leukozytenzelllinien. Der paarweise Vergleich der zirkulierenden Neutrophilen (CD15+), Monozyten (CD14+) und T Zellen (CD3+) des repräsentativen gesunden Spenders IV ist gezeigt. Für jede Linie ist innerhalb des Kreisdiagrammes der relative Anteil von spezifischen TZRβ CDR3 Varianten gezeigt, der auch von der jeweiligen anderen Zelllinie exprimiert wird.

CD15+			CD14+			CD3+		
Top 10 CDR3	Vβ usage	f	Top 10 CDR3	Vβ usage	f	Top 10 CDR3	Vβ usage	f
ASSYIQGNEQF	hTRBV5-3	11063	ASSLAGGQGPQH	hTRBV27	10704	ASSRLGLAWDTQY	hTRBV11-2	35772
ATRYAGQVEQF	hTRBV27	6115	ASSTGLONGPQH	hTRBV27	9406	ASSQGYREVSTDTQY	hTRBV3-1	13321
SARGRYFNQDTQY	hTRBV20-1	4701	ASSFGQNGPQH	hTRBV27	9298	SYKTDTPGDTQY	hTRBV20-1	11821
SASLGASDTGELF	hTRBV20-1	3857	ASSGQMFGPQH	hTRBV28	8607	ASSLAPVQNTAEF	hTRBV7-2	10390
SATDSPALYSITEAF	hTRBV20-1	3640	ASSYPSWTSYEQY	hTRBV27	8638	ASTFDGASSYEQY	hTRBV5-3	8800
ASSLWHTSGSRDTQY	hTRBV28	3630	ASRQRDTQY	hTRBV5-3	7955	ASSLYASGTETQY	hTRBV5-4	8747
ATSPAAQLNTEAF	hTRBV15	3472	ASSLTPNTQY	hTRBV27	7848	SARDTLAHTDTQY	hTRBV20-1	6426
ASSPSVTYEQY	hTRBV27	2789	ASSRORYTEAF	hTRBV28	7210	ASSSNRAPQAF	hTRBV27	4847
ASSYSWGFQETQY	hTRBV5-6	2484	ASSVLOTQY	hTRBV5-1	7208	ASSLTSQTSNEQF	hTRBV5-3	4630
ASSRLGLAWDTQY	hTRBV11-2	2250	ASSLGASRTDTQY	hTRBV27	7120	ASTERELDTQY	hTRBV5-3	4430
Σ CDR3 _p : n = 207			n = 4.443			n = 328.478		

Abb 4: Eine Übersicht der zehn am häufigsten exprimierten TZRβ CDR3 Varianten jeder Zelllinie repräsentativ gezeigt für einen gesunden Spender (I). Angegeben sind die Transkripthäufigkeiten (f), die verwendeten Vβ Ketten sowie die Gesamtanzahl der einzigartigen TZRβ Varianten (Σ CDR3_p, unten). Eine CDR3 Variante, die sowohl in CD15+ als auch in CD3+ exprimiert wird, ist rot markiert.

Die hohe Rate an linien-spezifischer TZRβ Repertoire Expression weist darauf hin, dass nur ein begrenzter Anteil der TZRβ CDR3 Sequenzen von allen drei Linien in einem Individuum gleichzeitig exprimiert wird. In der Tat fanden wir, dass nur ein kleiner Teil (0,006 bis 0,08%) des gesamten TZRβ Repertoire-Pools jedes Spenders von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen gleichzeitig exprimiert wird (Abb. 5).

Im Durchschnitt werden 0,03% der CDR3 Varianten von allen drei Linien gleichzeitig exprimiert. Diese Ergebnisse zeigen die Existenz gemeinsamer TZRβ Varianten in Neutrophilen, Monozyten und T Zellen, die gegen ein gleiches Antigen gerichtet sind und somit erste Hinweise für eine konzertierte Immunantwort sind. Vergleiche der gemeinsamen

TZRβ Repertoire-Pools zeigten, dass sich diese zwischen den Spendern stark unterscheiden und weisen daher darauf hin, dass die gemeinschaftliche TZRβ Reaktion individual-spezifisch ist.

DISKUSSION

In dieser Studie liefern wir erstmalig einen Vergleich der TZRβ Transkriptome von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen aus peripherem Blut, die mit Hilfe einer semiquantitativen Hochdurchsatzsequenzierung erstellt wurden. Unsere TZRβ Immunrepertoire Analyse bietet einen globalen Einblick in die bisher unbekannte Komplexität und Dynamik der zwei kürzlich entdeckten myeloiden rekombinatorischen Immunsysteme.

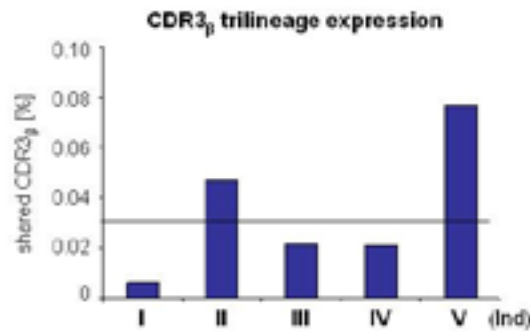


Abb 5:
Auflistung der einzelnen Subfraktionen (%) der TZRβ Transkriptom, die gleichzeitig von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen exprimiert werden („Dreilini-Expression“). Der Mittelwert für alle Spender (I-V) ist als horizontale Linie eingezeichnet.

Die erste wichtige Erkenntnis dieser Studie ist, dass die TZRβ Transkriptom von Neutrophilen und Monozyten der gesunden Spender eine unerwartet hohe Diversität besitzen. Die Neutrophilen aus dem peripherem Blut von gesunden Spendern exprimieren im Durchschnitt etwa 103 TZRβ Klonotyp Varianten. Diese Repertoiregröße ist 10mal größer als es bisher mit Hilfe des konventionellen CDR3 Spektratyping und der Sanger-Sequenzierung bestimmt wurde (3,7). Das TZRβ Repertoire von Monozyten ist mit einer maximalen Diversität von >10000 Varianten noch erheblich größer. Die TZRβ Repertoire-Sequenzierung in unserer Kohorte von jungen gesunden Spendern zeigt, dass das TZRβ Transkriptom von CD3+ T Zellen im Durchschnitt aus 260000 einzigartigen TZRβ Transkriptvarianten besteht. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen von kürzlich veröffentlichten Hochdurchsatz-Sequenzierungsstudien

überein, die von ~350000 TZRβ Sequenzen in aufgereinigten T Zellen und ~490000 TZRβ Varianten in PBMC von einzelnen Spendern berichten (15,17). Bemerkenswerterweise hatte der Einsatz des SMART Filters nur einen kleinen quantitativen Effekt auf die TZRβ Repertoirediversitäten aller drei Linien. Das Eliminieren der Einzelkopien der CDR3 Varianten erbrachte allerdings eine 50%ige Abnahme der Repertoirediversität bei Neutrophilen und eine 30%ige Abnahme bei Monozyten und T Zellen. Es könnte daher möglich sein, dass unsere stringente Datenanalyse die wahre biologische Vielfalt der TZRβ Transkriptom aller drei Linien verschleiert. Eine praktische Auswirkung unserer Ergebnisse ist, dass bei zukünftigen Hochdurchsatzsequenzierungen, die die Analyse der TZR Repertoires von T Zellen aus Vollblut oder aus PBMC zum Ziel haben, Neutrophile und Monozyten als mögliche Quelle von TZRβ Repertoire Expression in Betracht gezogen werden müssen.

Das zweite wichtige Ergebnis unserer Studie ist, dass die große Mehrheit der TZRβ Repertoires, die von Neutrophilen, Monozyten und T Zellen eines Spenders exprimiert werden, linien-spezifisch sind. Das zeigt, dass die drei TZR-basierten variablen Immunsysteme verschiedene Antigenpools zum Ziel haben und eine hohe Unabhängigkeit zwischen den einzelnen Rezeptorsystemen besteht. Andererseits haben wir aber auch TZRβ Transkripte innerhalb der einzelnen Spender gefunden,

die von zwei oder sogar drei der Zelllinien gleichzeitig exprimiert wurden. Der Nachweis dieser gemeinsamen TZRβ Immunrezeptor-Varianten legt nahe, dass Neutrophile, Monozyten und T Zellen fähig sind, die selben Antigene anzugehen und dementsprechend in einer konzertierten Immunantwort zu agieren.

Zusammenfassend zeigt diese detaillierte molekulare Momentaufnahme des TZRβ Immunrepertoires von humanen Neutrophilen, Monozyten und T Zellen im peripheren Blut, dass die TZRβ Transkriptom von Neutrophilen und Monozyten eine Komplexität besitzen, die ein bzw. zwei Zehnerpotenzen höher liegt als bisherige Schätzungen vermuten ließen. Unsere Ergebnisse liefern die molekulare Grundlage für die Erforschung einer neuen Facette der Immunologie - dem Zusammenspiel zwischen den TZR-basierten kombinatorischen Abwehrmaschinerien der drei Immunzelllinien Neutrophile, Monozyten und T Lymphozyten.

DANKSAGUNG

Wir danken der Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik der DGKL für die Bereitstellung von Fördermitteln.

REFERENZEN:

- Hirano M, Das S, Guo P, Cooper MD. The evolution of adaptive immunity in vertebrates. *Adv Immunol* 2011; 109: 125-157.
- Janeway CA and Medzhitov R Jr. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 197-216.
- Puellmann K, Kaminski WE, Vogel M, Nebe CT, Schroeder J, Wolf H, Beham AW. A variable immunoreceptor in a subpopulation of human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 14441-6
- Puellmann K, Beham AW, Kaminski WE. Cytokine storm and an anti-CD28 monoclonal antibody. *N Engl J Med* 2006; 355(24): 2592-3
- Beham AW, Puellmann K, Laird R, Fuchs T, Streich R, Breysach C, Raddatz D, Oniga S, Pecerella T, Findeisen P, Kzhyshkowska J, Gratchev A, Schweyer S, Saunders B, Wessels JT, Möbius W, Keane J, Becker H, Ganzer A, Neumaier M, Kaminski WE. A TNF-regulated recombinatorial macrophage immune receptor implicated in granuloma formation in tuberculosis. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002375
- Fuchs T, Puellmann K, Hahn M, Dollt C, Pechlivanidou I, Ovsy I, Kzhyshkowska J, Gratchev A, Fleig J, Emmert A, Neumaier M, Beham AW, Kaminski WE. A second combinatorial immune receptor in monocytes/macrophages is based on the TCRγδ. *Immunobiology*. 2013; 218: 960-968.
- Fuchs T, Puellmann K, Scharfenstein O, Eichner R, Stobe E, Becker A, Pechlivanidou I, Kzhyshkowska J, Gratchev A, Ganzer A, Neumaier M, Beham AW, Kaminski WE. The neutrophil variable TCR-like immune receptor is expressed across the entire human life span but repertoire diversity declines in old age. *Biochem Biophys Res Commun* 2012b;419(2): 309-15.
- Fuchs T, Puellmann K, Schneider S, Kruth J, Schulze TJ, Neumaier M, Beham AW, Kaminski WE. An autoimmune double attack. *Lancet* 2012a;379(9823): 1364.

- Legrand F, Driss V, Woerly G, Loiseau S, Hermann E, Fournié JJ, Héliot L, Mattot V, Soncin F, Gougeon ML, Dombrowicz D, Capron M. A functional gammadelta TCR/CD3 complex distinct from gammadeltaT cells is expressed by human eosinophils. *PLoS One* 2009;4(6): e5926.
- Lakschevitz FS, Aboodi GM, Glogauer M, et al., Oral neutrophils display a site-specific phenotype characterized by expression of T-cell receptor, *J Periodontol* 2013; DOI: 10.1902/jop.2012.120477
- Bell JJ, Bhandoola A. The earliest thymic progenitors for T cells possess myeloid lineage potential. *Nature* 2008; 452: 764-767.
- Kaminski WE, Beham AW, Kzhyshkowska J, Gratchev A, Puellmann K. On the horizon: Flexible immune recognition outside lymphocytes. *Immunobiology* 2013; 218: 418- 426.
- Kaminski WE, Beham AW, Puellmann K. Extralymphocytic flexible immune recognition: a new angle on inflammation and aging. *Aging Dis* 2012; 3: 404-413.
- Kircher M and Kelso J. High-throughput DNA sequencing- concepts and limitations. *Bioessays* 2010; 32: 524-536.
- Wang C. et al. High throughput sequencing reveals a complex pattern of dynamic interrelationships among human T cell subsets. *Proc Natl Acad. Sci USA* 2010; 107: 1518-1523.
- MacArthur D. Methods: Face up to false positives. *Nature* 2012; 487: 427-428.
- Warren RL et al. Exhaustive T-cell repertoire sequencing of human peripheral blood samples reveals signatures of antigen selection and a directly measured repertoire size of at least 1 million clonotypes. *Genome Res* 2011; 21: 790-797.

VERFASSTER:

Prof. Dr. Wolfgang Kaminski¹

Dr. Tina Fuchs

Institut für Klinische Chemie
 Universitätsmedizin Mannheim
 Universität Heidelberg
 Theodor-Kutzer-Ufer 1-3
 68167 Mannheim

¹Aktuelle Adresse:

Bioscientia Institut für
 Medizinische Diagnostik GmbH
 Konrad-Adenauer-Straße 17
 55218 Ingelheim
 wolfgang.kaminski@bioscientia.de

Eintauchen in eine andere Welt – der 33. Weltkongress der Internationalen Gesellschaft für Bluttransfusion (ISBT) in Seoul

In der Zeit vom 31. Mai bis zum 05. Juni 2014 fand in Seoul die 33. Jahrestagung der ISBT (International Society Blood Transfusion) mit insgesamt 3.000 Teilnehmern statt. Das Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) beteiligte sich sowohl durch einen Messestand, aber auch durch einen Vortrag, den Dr. Tanja Vollmer (Bad Oeynhausen) über den Nachweis von Bakterien in Thrombozytenkonzentraten mit Hilfe von Schnelltestmethoden gehalten hat. Mit dem Vortrag erzielte Dr. Vollmer eine große Aufmerksamkeit, da das Thema der bakteriellen Sicherheit in den vergangenen Jahren in den Vordergrund der Transfusionsmedizin gerückt ist. Die Ergebnisse der Ringversuche aus 2013 zeigen, dass auch in diesem Bereich eine externe Qualitätskontrolle möglich ist. Die ISBT Arbeitsgruppe für transfusionsbedingte Infektionserkrankungen möchte daher gern die Strukturen des RfB nutzen und einen entsprechenden Ringversuch weltweit durchführen.

Auch die Mitarbeiterinnen des RfB repräsentierten das RfB exzellent auf der Industriemesse. Grundsätzlich spielt die Qualitätskontrolle bei allen diagnostischen Untersuchungen eine wesentliche Rolle. Viele



Teilnehmer waren vor allem aus den Bereichen der großen Breite der Ringversuche von der Klinischen Chemie, der Immunhämatologie, der Hämostaseologie, der Autoimmunerkrankungen, der Virologie, der Bakteriologie, der Parasitologie und der Pathologie beeindruckt. Neue Kooperationspartner und neue Teilnehmer an den Ringversuchen bahnen sich an. Die Teilnahme an dem ISBT Kongress war somit sehr geeignet, die Wahrnehmung des RfB auf einem internationalen Kongress zu erhöhen. Die Teilnehmer der Messe kamen im Wesentlichen aus den asiatischen Ländern, so dass das RfB dort nun auch einen gewissen Bekanntheitsgrad erreicht hat.

Seoul präsentierte sich mit mehr als 11 Millionen Einwohnern als eine moderne, weltoffene Stadt, in der die Einwohner fast immer online sind. Dies fiel vor allem bei der Benutzung der öffentlichen Verkehrsmittel auf, dass eigentlich jeder Mitreisende permanent mit einem elektronischen Kommunikationsgerät (Handy, Tablet etc.) beschäftigt ist. Ob dadurch allerdings die Kommunikation verbessert wird, konnten die RfB Mitarbeiter in der Kürze der Zeit nicht herausfinden.

Neben der Sicherheit der Blutprodukte standen neben der allgemeinen Qualitätssicherung auch die Immunhämatologie sowie die Stammzellforschung im Mittelpunkt des Kongresses. Mit der ISBT Akademie wird versucht, jungen Kolleginnen und Kollegen einen Einstieg in die Transfusionsmedizin zu ermöglichen. Die Integration und die Bildung von wissenschaftlichen und persönlichen Netzwerken spielte dabei eine große Rolle und soll mit dazu beitragen, weltweit die Sicherheit und die Anwendung der Blutkomponenten zu gewährleisten und auf ein vergleichbares Qualitätsniveau zu heben. Im kommenden Jahr trifft sich die ISBT als regionaler Kongress vom 28. Juni bis 1. Juli in London. Hier wird das RfB die begonnene Arbeit, sich an dieser Stelle zu präsentieren und die große Bandbreite der Ringversuche vorzustellen, selbstverständlich fortsetzen.



VERFASSTER:

Prof. Dr. Michael Schmidt
Stiftung für Pathobiochemie und
Molekulare Diagnostik,
Friesdorfer Str. 153, 53175 Bonn,
e-Mail: Stiftungsvorstand@dgkl.de

XIII. Internationaler Kongress für Pädiatrische Laboratoriumsmedizin

Zum dritten Mal (nach Fortaleza 2008 und Berlin 2013) fand der Internationale Kongress für Pädiatrische Laboratoriumsmedizin (ICPLM; www.icplm2014.org) als offizielle Satelliten-Konferenz vor dem IFCC-WorldLab-Kongress statt, in diesem Jahr vom 20. bis 22. Juni im Internationalen Kongresszentrum von Istanbul (Türkei). Die Zahl 13, die laufende Nummer in der Serie dieser seit 1980 veranstalteten Kongresse, brachte erfreulicherweise kein Unglück, sondern erwies sich im Gegenteil eher als Glückszahl. Wie in den Jahren zuvor sorgten IFCC und EFLM für die Schirmherrschaft und einige nationale klinisch-chemische Fachgesellschaften, darunter auch die DGKL, trugen mit ihrer materiellen Unterstützung wesentlich dazu bei, den Kongress möglich zu machen. Das Amt der Kongresspräsidentin bekleidete Vijay Grey aus Toronto, die derzeitige Vorsitzende der „Task Force on Pediatric Laboratory Medicine“ der IFCC. Sie wurde unterstützt von den Istanbul Co-Präsidentinnen Feyza Darendiler (Vizepräsidentin der türkischen Gesellschaft für Pädiatrie) und Ümüt Turkoglu (Pädiatrische Klinische Chemie, Universität Istanbul).

Mehr als 200 interessierte Kolleginnen und Kollegen aus 43 Ländern kamen zusammen, um sich über die neuesten Entwicklungen in dieser so wichtigen Teildisziplin unseres Faches auszutauschen, neue Kontakte zu



Im modernen Internationalen Kongresszentrum Istanbul fanden ICPLM und IFCC WorldLab statt.

knüpfen und lang bestehende aufzufrischen und zu intensivieren.

Eine gelungene Mischung aus vier Plenarvorträgen, elf thematisch orientierten Symposia, einer Podiumsdiskussion und etwa 60 Posterbeiträgen sorgte für die wissenschaftliche Ertüchtigung der Teilnehmer, die durch hervorragende kulinarische Beiträge aus der türkischen Küche sowie die überwältigende Fülle der Eindrücke in dieser faszinierenden Stadt noch ergänzt wurde. Die Kongressbeiträge umfassten inhaltlich das gesamte Spektrum der pädiatrischen Laboratoriumsmedizin, vom Neugeborenenalter bis zur Adoleszenz, von Referenzintervallen bis zur Ernährung, von Krebserkrankungen

bis zur Endokrinologie. Auch Themen wie die spezielle Weiterbildung in der pädiatrischen Laboratoriumsmedizin oder neueste Ergebnisse auf dem Gebiet der Immunologie und Allergologie wurden diskutiert, und die lebhafteste Podiumsdiskussion über die Definition und Handhabung von „Alarmgrenzen“ („Critical Values“) bei den Ergebnissen von Laboratoriumsuntersuchungen rundete das Programm ab.

Der Eröffnungsvortrag wurde von Dr. Bekir Keskinkilic gehalten, der als Stellvertretender Generaldirektor im türkischen Gesundheitsministerium für die Neugeborenen-Screening-Programme in der Türkei verantwortlich ist. In seiner Präsentation zeigte er eindrücklich, dass innerhalb weniger Jahre ein nahezu flächendeckendes Programm zum PKU-, Hypothyreose- und Biotinidase-Mangel-Screening aufgebaut werden konnte. Eine Ausweitung des Programms auch auf Screening-Programme bei Schulkindern, wie etwa die Erfassung von Hörproblemen, ist derzeit in Vorbereitung.

Screening-Untersuchungen von Neugeborenen auf konnatale Stoffwechselstörungen bildeten auch einen besonderen Schwerpunkt des Kongresses. Ein Plenarvortrag von Michael Bennett aus Philadelphia („Newborn Screening for metabolic diseases: Saving children's lives and improving outcomes“) sowie eines der Symposia mit vier Vorträgen zu den Themen „Erweitertes



Lebhafte Diskussionen während der Pausen, auch an den Ausstellungsständen

Neugeborenenenscreening“, „Trockenblut-Analyse mittels Massenspektrometrie zur Krebsdiagnostik“, „Screening auf lysosomale Speicherkrankheiten“, „Neue Ansätze zum Neugeborenenenscreening mittels NMR“ belegten diesen Schwerpunkt eindrücklich.

Dem metabolischen Syndrom als zunehmendes Problem in der Pädiatrie widmete sich Wieland Kieß aus Leipzig in seinem Plenarvortrag am Sonntag. Ausgehend von jüngsten Querschnittsuntersuchungen mit alarmierenden Ergebnissen zur zunehmenden Adipositas bei Kindern und Jugendlichen weltweit zeigte er die weitreichenden Konsequenzen für den Stoffwechsel bei diesen Patienten auf, untermauert mit der Darstellung einer Vielzahl von pathobiochemischen Prozessen, die hier eine entscheidende Rolle

spielen. Beispielhaft seien die Adipozytokine wie Leptin oder Adiponectin erwähnt, vom Fettgewebe synthetisierte und sezernierte Hormone, die bei adipösen Kindern in veränderten Konzentrationen beobachtet werden und als Prädiktoren für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms gelten.

Den Besonderheiten der pädiatrischen Laboratoriumsmedizin angemessen Rechnung tragen zu können, ist schon in unseren hoch entwickelten Industriestaaten nicht immer eine Selbstverständlichkeit. Dass dieses in den Ländern mit geringen Ressourcen noch ganz andere Dimensionen umfasst, zeigte Jocelyn Hicks, ehemalige Direktorin der klinischen Laboratorien am Children's National Medical Center in Washington (USA) und eine der Pioniere in dieser Disziplin, in ihrem Plenarvortrag „Pediatric laboratory medicine in the developing world“ zum Abschluss des Kongresses auf. Basierend auf ihren langjährigen Erfahrungen bei Trainingsprogrammen für Laboratoriumsmedizin in afrikanischen und asiatischen Staaten berichtete sie über die oftmals sehr grundlegenden Probleme bei der Qualitätssicherung, adäquater Methodik und zeitnahen Verfügbarkeit der Diagnostik, insbesondere bei der Versorgung von Kindern, die in den meisten der genannten Ländern einen sehr viel höheren Anteil an der Patienten-Klientel haben als bei uns.

Ein besonderes Anliegen der Organisatoren der Internationalen Kongresse für

Pädiatrische Laboratoriumsmedizin ist seit vielen Jahren die gezielte Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses, und dank der großzügigen Unterstützung durch die Firma Neumann & Kindler labcore konnten auch dieses Mal wieder drei mit je 500 Euro dotierte Nachwuchspreise verliehen werden. Der Preis für die beste mündliche Präsentation eines eingereichten Abstracts ging an Jakob Zierk aus Erlangen für seinen Beitrag „Age- and gender-specific dynamics from birth to adolescence — Indirect determination of pediatric reference intervals in 22 hematological and biochemical analytes“, der Preis für die beste Darstellung eines jungen Autors an Xi Zhang aus Shanghai (China) für die Arbeit „A novel method based on multiplex ligation-dependent probe amplification for the detection of 22q11.2 copy number variations in patients with congenital heart diseases“, und der Preis für die beste Posterpräsentation wurde an Li Wang aus Vancouver (Kanada) für ihr Poster mit dem Titel „Acute encephalopathy due to true hyponatremia and hyperammonemia after fast infusion of intravenous immunoglobulin“ verliehen.

Dank der Unterstützung der Canadian Society of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CSCC) und des Elsevier-Verlages konnte auch für den 13. ICPLM die Publikation der erweiterten Zusammenfassungen der Plenar- und Symposiumsvorträge sowie die Abstracts der eingereichten Posterbeiträge in der Zeitschrift „Clinical Biochemistry“



Verleihung der Nachwuchs-Preise: Jakob Zierk (Erlangen, 2. v. l.) und Li Wang, (Vancouver, r.) mit Kongresspräsidentin Vijay Grey und K. P. Kohse

ermöglicht werden (Clin Biochem 2014; 47(9): 691-803, <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00099120/47/9>), so dass auch interessierte Kolleginnen und Kollegen, die nicht nach Istanbul kommen konnten, die Möglichkeit erhalten, sich über die Themen ausführlicher zu informieren.

Die Organisation des Kongresses lag auch dieses Mal wieder in den bewährten Händen von „MZ Congressi“ aus Mailand, deren stets freundliche Mitarbeiter für einen reibungslosen Ablauf aller Prozesse von der Anmeldung der Teilnehmer bis zur „Rundum-Betreuung“ der Referenten sorgten. Trotz überall knapper werdender Ressourcen konnten wiederum einige Partner aus der Diagnostica-Industrie für eine finanzielle Unterstützung

gewonnen werden; hier gilt insbesondere auf der deutschen Seite der Firma Sarstedt besonderer Dank.

Am Ende der zwei gut gefüllten Kongress-tage waren Organisatoren und Teilnehmer einhellig der Meinung, dass auch dieser ICPLM wieder ein großer Erfolg war, so dass unmittelbar nach der Abschlusszeremonie die ersten vorbereitenden Gespräche für den nächsten, den 14. Internationalen Kongress für Pädiatrische Laboratoriumsmedizin aufgenommen wurden, der vom 20. bis 22. Oktober 2017 in Durban (Südafrika) stattfinden wird. Die Planung sieht wiederum eine unmittelbare zeitliche Anbindung an die „IFCC WorldLab“ 2017 (www.durban2017.org) vor, so dass auch die Teilnehmer des „großen“ Kongresses die Gelegenheit nutzen können, mit einem geringen zusätzlichen Aufwand die besonderen Aspekte des „pädiatrischen Labors“ zu studieren.

VERFASSTER:

Prof. Dr. Dr. Klaus P. Kohse
Fakultät für Medizin und
Gesundheitswissenschaften
Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
Klinikum Oldenburg gGmbH
Institut für Laboratoriumsdiagnostik
und Mikrobiologie
Rahel-Straus-Straße 10
26133 Oldenburg

IFCC WorldLab Istanbul vom 22. bis 26. Juni 2014

Istanbul, Metropole auf zwei Kontinenten und heimliche Hauptstadt der Türkei, war vom 22. bis 26. Juni 2014 Tagungsort des 22. IFCC-Kongresses, der WorldLab 2014, die im 2009 eröffneten Internationalen Kongresszentrum abgehalten wurde. Traditionell wurde diese nur alle 3 Jahre stattfindende Großveranstaltung von der gastgebenden Fachgesellschaft, der Türkischen Biochemischen Gesellschaft (TBS), mit ihrem 28. nationalen Kongress verbunden. Insgesamt nahmen 5.133 Teilnehmer aus 116 Ländern an dem Kongress teil, der damit nach der letzten WorldLab 2011 in Berlin erneut herausragendes, weltweites Interesse in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin und weit darüber hinaus gefunden hat. Neun internationale und regionale Fachgesellschaften aus allen Kontinenten haben Beiträge zum Programm geleistet.

Der Kongress wurde am Sonntag Abend durch den Kongresspräsidenten Nazmi Özer und den Präsidenten der IFCC Graham Beastall eröffnet. Anschließend wurden die diesjährigen Preisträger der IFCC bekannt gegeben. Es waren dies Matthew McQueen, Ontario (IFCC Distinguished Clinical Chemist Award) Robert Dufour, Washington DC (IFCC-Henry Wishinsky Award



for Distinguished International Services) Carl Burtis, Oak Ridge (IFCC Award for Distinguished Contributions in Education) Francis Barany, New York (IFCC-Abbott Award for Significant Contributions in Molecular Diagnostics) Mario Plebani, Mailand (IFCC Distinguished Award for Laboratory Medicine and Patient Care) Gregory Miller, Richmond (IFCC-Robert Shaffer Award for Outstanding Achievements in the Development of Standards for Use in Laboratory Medicine) and Geoffrey Baird (IFCC-Young Investigator Award). Den Eröffnungsvortrag mit dem Thema „Immunometabolism of Obesity and Diabetes“, eines der wissenschaftlichen Glanzlichter des Kongresses, hielt Gökhan Hotamisligil von der Harvard University. Er fasste darin seine mit vielen hochrangigen Preisen bedachten, wegweisenden wissenschaftlichen Arbeiten zu diesem wichtigen Thema zusammen und zeigte die diagnostischen und therapeutischen Potentiale auf. Abschließend boten

die Solisten Cihat Askin (Violine) und Göksun Cavdar (Klarinette) mit dem Askin-Ensemble eine musikalische Reise durch die ottomani-sche Musik des 19. Jahrhunderts. Die Eröff-nungsfeier klang in einem Empfang auf der Terrasse des Kongresszentrums aus.

Wissenschaftliche Sitzungen, Symposien in acht Hörsälen und die Industrieausstel-lung boten von Montag bis Donnerstag ein abwechslungsreiches Programm, das für je-den Interessierten etwas bereithielt. Das ge-samte Spektrum der Laboratoriumsmedizin wurde abgedeckt von den aktuellen Entwick-lungen in der Epigenetik, Autoimmunität und Hämostaseologie zu Markern von Gefäßer-krankungen sowie neurodegenerativen Pro-zessen, von POCT zu Praxisleitlinien, Im-mundefizienzen und Tumormarkern. Bei der Auswahl und Bearbeitung der Themen spiel-ten auch wieder die kooperierenden Fach-gesellschaften eine zentrale Rolle. Auch die Gastgeber hatten sich bei der Programm-entwicklung etwas Besonderes ausgedacht – drei der fünf Plenarvorträge wurden von in ihren Gebieten höchst erfolgreichen tür-kischen Wissenschaftlern gehalten, was Po-tential und Leistungsfähigkeit der türkischen Wissenschaft eindrücklich belegte. Das um-fangreiche Vortragsprogramm wurde durch fast 1.600 Posterbeiträge aus aller Welt ab-gerundet, denen in spezifischen Postersit-zungen viel Zeitraum im Programm gege-ben wurde. Zu erwähnen sind noch die drei Satellitensymposien der WorldLab: der XIII

Internationale Congress für Pädiatrische La-boratoriumsmedizin (20.-22. Juni), das POCT Satellite Meeting (22. Juni) und das Meeting LC-MS/MS in Clinical Laboratory (22. Juni), die intensiv diese speziellen Bereiche der La-bordiagnostik betrachteten.

Wie bei allen WorldLab Kongressen bot auch diese Tagung im Rahmenprogramm ein-malige Einblicke in das lebendige kulturelle und kulinarische Leben der gastgebenden Stadt, dessen Höhepunkt sicher die Abend-veranstaltung im Marmara Esma Sultan, ei-nem historischen Palast in einmaliger Lage am Bosphorus war. Wem das nicht reichte, der konnte die Bosphorusmetropole auch auf eige-ne Faust erkunden. Genügend Anziehungs-punkte gab es auf jeden Fall.

Wie immer endete das auch dieses Jahr gelungene Kongressprogramm mit der Ein-ladung zur nächsten WorldLab, die vom 22. bis 25. Oktober 2017 in Durban, Südafrika stattfinden wird.

VERFASSER:

Univ.-Prof. Dr. Karl J. Lackner
Universitätsmedizin Mainz
Institut für Klinische Chemie
und Laboratoriumsmedizin
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz

Minisymposium der Arbeitsgruppe Klinische Toxikologie der DGKL: Update Klinische Toxikologie 2014 – Klinik und Labor 17. und 18. Juni 2014 im Bildungszentrum Kloster Banz

Wie schon in den vergangenen Jahren fand diese Fortbildungsveranstaltung zu aktuel-len Themen der Toxikologie über 2 Tage mit 6 Vorträgen, 2 Impulsvorträgen und lebhaf-ten Diskussionen in der Kutschenhalle des ehemaligen Klosters statt. Auch 2014 hatte zuvor wieder eine gemeinsame Sitzung der Arbeitsgruppen „Klinische Toxikologie“ der DGKL und der GTFCh stattgefunden.

Die Vorträge beschäftigten sich mit der Be-deutung des toxikologischen Untersuchungs-befundes für die Notfallmedizin, mit der Ri-sikobewertung von Schwefelwasserstoff im Zusammenhang mit Biogasanlagen, mit der Entgiftung von Nervenkampfstoffen, mit der Analytik und Toxikologie von Proteinadduk-ten phosphororganischer Gifte, den Beson-derheiten der toxikologischen Analytik in der Veterinärmedizin, und dem Zusammenhang

von TDM und Toxikologie auf dem Gebiet der Psychopharmaka. Die Impulsvorträge luden zu ausgiebiger Diskussion über Maintenance-Validierung und Evidenz von Akkreditierung und Ringversuchen ein.

Ein großes Wiedersehen gab es mit Prof. Dr. Dr. Marika Geldmacher-von Mallinckrodt, die als Ehrengast zum diesjährigen Symposi-um eingeladen wurde. Frau Professor Geld-macher war von 1978-1990 Vorsitzende der Senatskommission für klinisch-toxikologische Analytik der Deutschen Forschungsgemein-schaft und etablierte die Toxikologie in der Klinischen Chemie. Sie selbst erhielt 1960 nach ihrem Chemie- und Medizinstudium die Anerkennung als Klinische Chemikerin und ist die Begründerin der Arbeitsgruppe für klinisch-toxikologische Analytik in der DGKL.



Der Vortrag von Professor Thomas Zilker (ehemaliger Leiter Technische Universität München, Klinische Toxikologie) begann mit einem Zitat von Max von Clarmann „Was für den Chirurgen das Röntgenbild ist für den klinischen Toxikologen der Giftnachweis“. Dieser Anspruch gilt zwar für die Toxikologische Abteilung in München rechts der Isar (Labor geht mit auf Visite), aber durchaus nicht für jede Klinik, so schränkte Thomas Zilker ein. Als Gründe für die Anforderung toxikologischer Laboruntersuchungen führte er an: Das klinische Bild passt nicht zur Giftanamnese; der Zustand des Patienten bessert sich nicht rasch; eine therapeutische Konsequenz hängt vom Giftnachweis ab. Was kann aber einen Arzt dazu bewegen, keinen Giftnachweis anzufordern? Das klinische Bild erscheint harmlos; er hat schon oft solche Vergiftungen behandelt und sie sind in der Regel gut ausgegangen; Kostendruck; es kann ohnehin nur symptomatisch behandelt werden; die Probenasservierung erscheint zu kompliziert (z.B. kein Spontanurin vorhanden und der Patient bessert sich vor der Asservierung); er schrickt vor der Organisation des Probentransports zurück; er befürchtet Transportkosten. Weshalb glaubt der Arzt sonst noch, auf den Giftnachweis verzichten zu können? Giftspiegel im Urin oder Serum sagen nichts über den Schweregrad der Vergiftung aus; die meisten Vergiftungen verlaufen harmlos (Letalität bei 0,6%); suizidaler Patient sollte keine Kosten

erzeugen; der Vorgesetzte unterschreibt den Arztbrief selbst, wenn er die äußerst unspezifische Diagnose einer „Tablettenvergiftung“ reinschreibt. Aber dann führte Prof. Zilker an vielen Beispielen aus, bei welchen Vergiftungen der Giftnachweis unverzichtbar ist und die Unterlassung beinahe einen Kunstfehler darstellt: Bei Vergiftungen, die sich langsam entwickeln; bei Vergiftungen, bei denen der Giftspiegel für die Therapie mittels Antidot oder extrakorporaler Gifitentfernung entscheidend ist (z.B. Methanol, Paracetamol). Als besonders wichtig hob Thomas Zilker hervor, dass eine Giftspiegelbestimmung auch eine invasive oder teure Therapie verhindern kann (z.B. bei Methanolingestion die Hämodialyse oder Fomepizolgabe; bei Paracetamolingestion die anaphylaktische Reaktion auf das Antidot).

Dr. Andreas Schaper (GIZ Göttingen) berichtete über die Risiken von Vergiftungen mit Schwefelwasserstoff in Biogasanlagen. Dieser, von Güllegruben schon lange bekannte Giftstoff, spielt durch die zunehmende Verbreitung von Biogasanlagen eine immer größere Rolle. Schwefelwasserstoff hemmt die Atmungskette und bindet an dreiwertiges Eisen. Er kann ab 1400 ppm nach wenigen Atemzügen tödlich wirken (toxischer als Cyanid!). Da er den *N. olfactorius* schädigt, wird die Warnwirkung des Geruchs (ab ca. 0,3 ppm) rasch aufgehoben. Ein Viertel aller Todesfälle durch Schwefelwasserstoff betrifft die Retter. Als Antidot kann 4DMAP

(Dimethylaminophenol) zwar die Symptomatik verbessern, aber um den Preis einer Met-Hb-Entwicklung, weshalb sein Einsatz umstritten ist. Neben gewerblichen Unfällen stellte Dr. Scharper den Fall eines Kindes vor, das Gülle aufgerührt haben soll. Die Symptome nach der mutmaßlichen Schwefelwasserstoffexposition waren Kreislaufkollaps und Krampfanfälle. Innerhalb einer Stunde kam es zu einer deutlichen Besserung der klinischen Situation. In der GIZ Nord wurden jährlich ca. 10 Vergiftungsfälle registriert. Die Schwere von Schwefelwasserstoffvergiftungen übersteigt dabei weit den Durchschnitt aller Vergiftungen mit einer Letalität von 3% gegenüber 0,6% (s. Zilker).

Dr. Christoph Seger (Universitätskliniken Innsbruck) leitete mit einem Impulsvortrag die Diskussion zu dem immer wichtiger werdenden Thema der Maintenance-Validierung ein. Neben der anfänglichen Methoden- und Gerätevalidierung wird es in der Praxis immer wichtiger, dafür Sorge zu tragen, dass die anfänglichen Leistungskriterien einer Methode erhalten bleiben. Das MPG verpflichtet zur Prüfung der Leistungsangaben. Ein Teil dieser Leistungsbewertung ist die Leistungsbewertungsprüfung, die oft fälschlich mit der Prüfung der Leistungsangaben gleich gesetzt wird. Genauere Definitionen macht die EN 13512, die in 2.7-2.10 zwischen Leistungsangabe, Leistungsbewertung, Leistungsbeurteilung und Leistung eines *In-vitro* Diagnostikums unterscheidet. Letztere ist

durch eine Reihe von Eigenschaften eines *In-vitro*-Diagnostikums definiert, die zu dessen Eignung für den vorgesehenen Zweck in Bezug stehen. Die große Frage dabei ist, mit welchen Prüfungen diese unveränderte Leistungsfähigkeit belegt werden kann? Die Industrie unternimmt erhebliche Anstrengungen, um die Geräteleistungskriterien durch entsprechende Wartungs- und prophylaktische Maßnahmen zu erhalten. Diagnostische Kits werden vor Freigabe nach verschiedenen Kriterien überprüft. Allerdings sind diese Prozeduren im Rahmen der CE-Zertifizierung weitgehend in der Eigenverantwortung der Hersteller. Dr. Seger warf nun die Frage auf, wie im Labor bei den In-house-Methoden das Thema Maintenance-Validierung angegangen wird? Ziel müsste es sein, die Übereinstimmung der Herstellung mit der Dokumentation durch geeignete Maßnahmen der Qualitätssicherung zu gewährleisten. Die Diskussion bewegte sich zwischen Minimal- und Maximalforderungen, d.h. Beschränkung auf die interne / externe Qualitätskontrolle oder regelmäßige Prüfung der wesentlichen Kennpunkte der Methodenvvalidierung. Letztlich war dann doch die überwiegende Meinung, dass der Schwerpunkt entsprechend der RiliBÄK (8.1 und 8.2) auf die interne und externe Qualitätssicherung mit einem Kontrollprobensystem nach dem Stand von Wissenschaft und Technik und durch regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen erfolgen sollte. Bei Verdacht auf Verschlechterung der

analytischen Leistungsfähigkeit sollten dann gezielt weitere Leistungskriterien, z.B. die Nachweisgrenze, überprüft werden.

Dr. Jürgen Hallbach (Städt. Klinikum München) beschäftigte sich in der Diskussion mit den Symposiumsteilnehmern mit dem Thema der Evidenzbasis von Anforderungen von Akkreditierung und Ringversuchen. Die RiliBÄK verpflichtet bekanntermaßen zur Teilnahme an Ringversuchen und die Checkliste der DAkkS geht noch weiter: „Das Laboratorium muss über ein dokumentiertes Verfahren zur Ringversuchsteilnahme verfügen, welches festgelegte Verantwortlichkeiten und Vorschriften für die Beteiligung und jedes Leistungskriterium, welches sich von den Kriterien der Ringversuchsprogramme unterscheidet, einschließt. Durch das Laboratorium ausgewählte Ringversuchsprogramme müssen weitestgehend klinisch relevante Fragestellungen abdecken, bei denen Proben von Patienten simuliert werden, und die sich so auswirken, dass das ganze Untersuchungsverfahren überprüft wird, falls möglich einschließlich präanalytischer und postanalytischer Maßnahmen“. Andererseits sind die Referenzinstitutionen verpflichtet, Ringversuchsproben auszuwählen und deren Eignung zu prüfen; vor dem Einsatz in Ringversuchen ist eine Prüfung unter Routinebedingungen mit Routinemessverfahren notwendig. Durch den Anspruch und Druck, möglichst alles mit Ringversuchen abzudecken, ergeben sich teilweise wie

im Impulsvortrag gezeigt und unter den Anwesenden diskutiert, nicht mit medizinischer Evidenz vereinbare Problemfälle. Dies zeigt sich in Zielwertbereichen bei quantitativen Verfahren, wenn z.B. die obere Bereichsgrenze das mehr als Dreifache der unteren Grenze beträgt. Es stellt sich die Frage, ob hier noch von quantitativer Analytik gesprochen werden kann. Bei qualitativen Verfahren wird teilweise nicht ausreichend unterschieden, welche Angaben zertifikatspflichtig sind und welche Bewertungen zur wissenschaftlichen Evaluierung und für die Weiterbildung (edukativ) erhoben werden. Die Problematik der qualitativen Ringversuche zeigt sich ganz besonders im Bereich des Drogenscreenings, da allgemein verbindliche, d.h. „behördlich“ festgelegte cut-off-Werte für die negativ/positiv-Entscheidung und Vorgaben, welche Einzelsubstanzen bei den Gruppentests erfassbar sein müssen, komplett fehlen. Die Testhersteller schlagen ihrerseits sehr unterschiedliche cut-off-Werte vor oder überlassen alles dem einzelnen Anwender. Dies führt dazu, dass keine Vergleichbarkeit der Resultate besteht und die Planung/Durchführung der vorgeschriebenen Ringversuche fast akrobatische Fähigkeiten verlangt. Welche Maßnahmen könnten hier einen Weg aus den aufgezeigten Dilemmas weisen? Im Bereich des Drogenscreenings könnten die Zertifikate ggf. nach einer Gesamtquote der Einzelergebnisse (80% richtige Ergebnisse in Summe) bewertet werden. Hierdurch wird

gewährleistet, dass es nicht durch schlechte Erfassbarkeit einer einzelnen Substanz durch den Test eines Herstellers ggf. zu einer Nichterhaltung eines Zertifikats und damit praktisch zu einer Markteinschränkung für den betroffenen Test kommen kann.

Im allgemeinen muss gefordert werden, dass Ringversuche primär die Analytik nach wissenschaftlich begründeten Kriterien prüfen, dass Messgrößen, bei denen große methodenabhängige Unterschiede in den Ergebnissen bestehen, bevorzugt von den wissenschaftlichen Fachgesellschaften im Dialog mit den Herstellern validiert werden und dass Kriterien für die von der Akkreditierung geforderte Postanalytik im Sinne der Ergebnisbeurteilung ebenfalls durch die Fachgesellschaften erstellt werden. Zudem sollten die konkreten Anforderungen für den Ringversuch durch Expertengremien unter Beteiligung der potentiellen Teilnehmer erstellt werden. Hierzu können z.B. Pilotringversuche mit anschließender Diskussion der Ergebnisse im Kreis der Teilnehmer eine Lösung sein.

Der Abend wurde in der mittelalterlichen Stadt Seßlach verbracht, wo neben einem Abendessen in einer festlich geschmückten Scheune auch eine Stadtführung mit Besuch der Kommunbrauerei auf dem Programm stand.

Den 2. Tag begann Professor Horst Thiermann (Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr, München) mit einem

Vortrag über die Entgiftung von Nerven-kampfstoffen durch Cyclodextrine als neuem therapeutischen Ansatz. Neben phosphororganischen Pestiziden (Diethylphosphoryl-OP bzw. Dimethylphosphoryl-OP) gibt es Nerven-kampfstoffe der sog. G-Reihe (Tabun = GA, Sarin = GB, Cyclosarin = GF, Soman = GD) und der V-Reihe (VR, VX, CVX). Besondere Beachtung bei der Behandlung von Kampfstoffen-exponierten Personen benötigen der Selbstschutz und die Dekontamination. Die klinische Diagnose der Kampfstoffvergiftung ist anhand von Symptomen und Expositionsumständen möglich, sie sollte aber rasch im Labor durch Messung der Butyrylcholinesterase oder besser der Acetylcholinesterase in Erythrozyten bestätigt werden. Die therapeutischen Konzepte sind die Gabe von Atropin (wirkt gegen Broncho-konstriktion und Bronchorrhoe), Atropin und Oxim (wirkt gegen zentrale Atemlähmung), denn nur Oxime wirken gegen die periphere Atemlähmung. Gebräuchliche Oxime sind Obidoxim, Pralidoxim, TMB4 und HI 6. In der USA wird zusätzlich die Gabe von Diazepam empfohlen. Die symptomatische Behandlung beruht auf künstlicher Beatmung, kardiovaskulärer Stabilisierung, Antibiotikagabe und möglicherweise Sedierung. Dies ist erforderlich, da oft die Reaktivierung der ACHE mit Oximen nicht von Dauer ist. Ein alternatives Therapiekonzept ist die Erhöhung der Elimination des Nerven-kampfstoffes durch Verwendung von Scavengern, z.B.

Cyclodextrinen. Es handelt sich dabei um cyclische Oligosaccharide, ggf. durch Substituenten modifiziert, die in wässriger Umgebung leicht nichtpolare organische Moleküle in ihre Kavität aufnehmen können. Die Mechanismen dieser Reaktion wurden an verschiedenen Beispielen experimentell und im Tierversuch untersucht und die Daten hierzu präsentiert.

Dr. Harald John (Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Bundeswehr, München) beschäftigte sich mit der Toxizität und Analytik von Proteinaddukten phosphororganischer Verbindungen. Solche Addukte sind u.a. beschrieben für die Butyryl- und Acetylcholinesterase, Albumin, Serinhydrolasen, Rezeptorproteine, Chymotrypsin oder Ubiquitin. Die Analytik der Addukte erfolgt nach Affinitätsextraktion aus Blutplasma und enzymatischem Proteinabbau mit Pepsin oder Pronase (Peptidisolation) mit Hilfe von HPLC-MS/MS. Phosphorylierte Peptide aus BChE dienen damit als Biomarker einer Exposition. Erfolgt die Peptidspaltung mit Endoproteinasen, dann entstehen größere Bruchstücke, die mittels MALDI-TOF-MS/MS nachgewiesen werden. So kann phosphoryliertes Albumin als Biomarker für eine Exposition nachgewiesen werden. Entsprechend phosphorylierte Tyrosinreste im Albuminmolekül konnten z.B. aufgrund eines Massenshifts um 160 mit Cyclosarin, um 134 mit Russian VX = CVR und um 166 mit Profenofos korreliert werden. Besonders interessant sind

Ubiquitinaddukte. Hier sind über Lysinreste Mehrfachphosphorylierungen möglich, da Ubiquitin 7 biologisch relevante Lysinreste enthält.

Dr. Dieter Müller (Giftinformationszentrum-Nord, Universitätsmedizin Göttingen) referierte über Beispiele akuter Vergiftungen in der Veterinärmedizin und die Besonderheiten der toxikologischen Analytik. Besonders gehäuft kommt es zu Tierverschüttungen bei Hunden, Pferden, Katzen und Vögeln (Hühner, Kanarienvögel, Falken). Die Toxizität bestimmter Stoffe kann gegenüber den vom Menschen bekannten Daten speziesabhängig sehr unterschiedlich sein. Beispielsweise hat Theobromin (Schokolade) bei vielen Hunderassen eine LD50 von 140 mg/kg oder Propenophos bei Hühnern eine sehr niedrige LD50 von 1.9 mg/kg gegenüber Säugtieren (Kaninchen 700 mg/kg). Greifvögel wie Falken gehören zu den teuren Tieren, die immer wieder Giftanschlagsopfer sind. So wurde bei einem Falken eine blaue Anhaftung festgestellt, die sich als Parathion erwies. Daneben wurden mittels GC/MS noch weitere Substanzen festgestellt. Ein besonderer Fall ergab sich in einem Zoo. Bei einem äußerst schläfrigen Löwen identifizierte die Vergiftungsanalytik Pentobarbital. Hier lag jedoch keine absichtliche Vergiftung vor, sondern dem Löwen wurde Fleisch von euthanasierten Tieren verfüttert, eine wohl übliche Praxis in Zoos. Für einen zuverlässigen Befund sind daher die genaue Erhebung der

Vorgeschichte und Symptome, die Bearbeitung geeigneter Proben und eine korrekte, die Speziesbesonderheiten berücksichtigende Interpretation erforderlich.

Professor Christoph Hiemke (Mainz, AGNP) beschäftigte sich in einem Übersichtsreferat mit der Evidenz von Psychopharmakaspiegeln und ihrer Bedeutung für Intoxikationsfälle. Hiemke zitierte die Definition evidenzbasierter Medizin (EBM) von Sackett: EBM ist der gewissenhafte, ausdrückliche und vernünftige Gebrauch der gegenwärtig besten externen, wissenschaftlichen Evidenz für Entscheidungen in der medizinischen Versorgung individueller Patienten. Die Ziele des Therapeutischen Drug Monitorings (TDM) sind in diesem Zusammenhang die verbesserte Effektivität, Sicherheit und Verträglichkeit der Pharmakotherapie. So haben z.B. verschiedene Studien/Metastudien einen Grenzwert von 300 µg/l für Tricyclische Antidepressiva hinsichtlich der Cardiotoxizität aufgezeigt. Für die neueren Antidepressiva konnte Ch. Hiemke am Beispiel des Venlafaxin mittels des HAMD-Scores (Hamilton rating scale for depression) zeigen, dass mit TDM die Besserung signifikant rascher eintrat als ohne TDM, aber nach 35 Tagen etwa der gleiche Endpunkt erreicht wurde. Am Beispiel der Antiepileptika ergab sich in der Literatur (Epilepsia 2000) kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich der Remissionsrate mit bzw. ohne TDM. Allerdings lagen die Blutkonzentrationen ohne TDM-Überwachung bei

Phenobarbital zweimal so häufig wie unter der Zielkonzentration. Damit ergab sich keine Evidenz für das TDM von Antiepileptika mit dem Ziel vordefinierte Zielwerte zu erreichen, um die Therapie von Patienten mit neu aufgetretener Epilepsie zu steuern. In 2011 wurden zuletzt AGNP-Konsensus-Leitlinien für das Therapeutische Drug Monitoring in der Psychiatrie veröffentlicht (www.ppt-online.de). Hierin sind die Empfehlungen in 4 Graduierungen von dringend empfohlen bis potenziell nützlich abgestuft worden. In der höchsten Stufe sind die berichteten therapeutischen Referenzbereiche durch Studien validiert worden und kontrollierte klinische Studien haben positive Effekte von TDM nachgewiesen. Zudem gibt es Berichte über Unverträglichkeiten oder Vergiftungen bei hohen Plasmakonzentrationen. Beispiele sind Lithium, Tricyclische Antidepressiva, Clozapin, Olanzapin oder Amisulprid. In der niedrigsten Stufe korrelieren die Plasmakonzentrationen aufgrund besonderer pharmakologischer Eigenschaften des Arzneimittels nicht mit den klinischen Effekten z.B. aufgrund irreversibler Enzymblockaden oder aber die Dosierung kann leicht Symptomorientiert erfolgen wie z.B. bei der Schlafinduktion durch Hypnotika. Substanzbeispiele sind Agomelatin, Tranylcypromin oder Diazepam. Neben den Daten in den AGNP-Leitlinien wurden 2012 in Psychopharmakotherapie Konsensus-Warnschwellen für das Labor publiziert, die zu einer sofortigen telefonischen

Befundübermittlung führen sollten. Diese Warnschwelle liegt z.B. für Nortriptylin bei 300 ng/mL (therapeutisch 70-170 ng/mL) oder für Sertralin ebenfalls bei 300 ng/mL (therapeutisch 10-150 ng/mL) oder für Olanzapin bei 150 ng/mL. In einem Fallbeispiel stellte ein Patient das Rauchen ein. Anschließend erhöhte er wegen Schizophrenie-symptomen seine Dosierung von 20 auf 40 mg/d und setzte dann 48h vor Blutentnahme seine Medikation ab. Aufgetreten war ein pharmakogenes Dilir aufgrund Deinduktion von CYP1A2 nach Absetzen des Rauchens verbunden mit der gleichzeitigen Dosiserhöhung. Nach 48h ohne erneute Dosierung war der Olanzapinspiegel (118 ng/mL) immer noch in der Nähe der Warnschwelle.

Das nächste Symposium in Banz findet am 6. und 7. Oktober 2015 statt.

VERFASSTER:

Dr. Jürgen Hallbach
Medizet - Department für Klinische Chemie
Städt. Klinikum München GmbH
Kölner Platz 1
80804 München
e-Mail: juergen.hallbach@klinikum-muenchen.de



EFLM connects National Societies of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and creates a platform for all European “Specialists in Laboratory Medicine”

EFLM represents IFCC in Europe



Clinical Chemistry and Laboratory Medicine is at the heart of modern healthcare. The **MISSION** of EFLM is to enhance patient care and improve outcomes by promoting and improving the scientific, professional and clinical aspects of clinical chemistry and laboratory medicine

The main **ACTIVITIES** of EFLM relate to education, research, development of the profession, requirements for competence, quality and accreditation of laboratories, organisation of congresses, and publications (Guidelines, Recommendations and Position Papers)

THE EFLM STRUCTURE

GENERAL ASSEMBLY (GA)				
EXECUTIVE BOARD (EB)				
Communication Committee (C-C)	Education & Training Committee (C-ET)	Profession Committee (C-P)	Quality & Regulation Committee (C-QM)	Science Committee (C-S)
Promotion (WG-P)	Congresses and Postgraduate Education (WG-CPE)	Common Training Frameworks / Syllabus (WG-CTF)	Accreditation and ISO/CEN Standards (WG-A/ISO)	Cardiac Markers (WG-CM)
EFLM History (TFG-H)	Distance and e-Learning Education (WG-DE)	Recognition of Professional Qualifications (WG-RPQ)	IVD Directive (WG-IVD)	Biological Variation (WG-BV)

THE EC4 REGISTER OF EUROPEAN SPECIALISTS IN LABORATORY MEDICINE



The EC4 Register is a database of senior professionals in the EU who meet the agreed education and training requirements to be independent practitioners (consultant/ director grade). Over 3000 registrants from 22 countries joined the Register since 1999.

Do join the EC4 Register to strengthen the influence of the Profession!

Further information at: www.ec4register.eu

Keep updated with EFLM activities

Join the EFLM circulation list!

(free subscriptions from the EFLM homepage)

Collaborations



- Guidelines (WG-G)
- Laboratory Testing for Dyslipidemia (TFG-LTD)
- Patient Focused Laboratory Medicine (WG-PFLM)
- Personalized Laboratory Medicine (WG-PLM)
- Postanalytical Phase (WG-POST)
- Critical Results (TFG-CR)
- Preanalytical Phase (WG-PRE)
- Test Evaluation (WG-TE)
- Total Testing Harmonization (WG-TH)

www.efccclm.org

Deutsch-Französisches Gesundheitsforum: Journées Internationales de Biologie 2014

In diesem Jahr wird der französische Kongress für Labormedizin und klinische Biologie, die Journées Internationales de Biologie, mit dem Deutsch-Französischen Gesundheitsforum als Inauguralveranstaltung am 08. Oktober eröffnet. Die Journées Internationales de Biologie sind der größte francophone Kongress für Labormedizin mit etwa 4000 Teilnehmern und einer großen Industrieausstellung, der auch von Kollegen aus dem Maghreb, Zentral- und Westafrika,

Kanada und der Karibik besucht wird. 2014 ist Deutschland erstmals „pays d'honneur“.

Auf dem Deutsch-Französischen Gesundheitsforum werden die praktischen und rechtlichen Rahmenbedingungen der Berufsausübung des Faches Labormedizin/ biologie clinique, von der Ausbildung über die Vorstellung der Strukturen und Funktionen der relevanten Organisationen für die Regulierung der Ausübung der Berufstätigkeit, die Qualitätssicherung, zu den Kriterien der Definition von Leistungskatalogen und Vergütungssystemen von eingeladenen Referenten aus den Gesundheits- und Sozialministerien, der KBV, dem G-BA und der DAKKS/ COFRAC

dargestellt und deren unterschiedliche Umsetzung in Deutschland und Frankreich aufgezeigt. Am 10. Oktober wird ergänzend ein Symposium zur Gerinnungsdiagnostik stattfinden, in dem die Unterschiede in der Praxis und der Leitlinien in Deutschland und Frankreich für den ambulanten und stationären Bereich behandelt werden.

Mit diesem neuen Veranstaltungskonzept soll ein Forum für die Diskussion und den Austausch zwischen den Vertretern unseres Faches insbesondere zwischen Deutschland und Frankreich als zwei der größten Gesundheitssektoren in Europa initiiert werden. Eine simultane Übersetzung wird die Diskussion und den Vergleich der beiden Gesundheitssysteme erlauben, in deren unterschiedlichen Rahmenbedingungen wir unser Fach ausüben, um voneinander zu lernen.

VERFASSER:

Prof. Dr. Mariam Klouche
Bremer Zentrum für Laboratoriumsmedizin
LADR Akademie

59^e edition

JIB 8/9/10 oct. 2014
Cnit Paris La Défense - France

**French and European
Laboratory medicine**

France - Germany Forum
Political and economic issues at stake

More info on www.jib-sdbio.fr

French-English simultaneous translation will be provided.
Access to the France-Germany Forum programme will be free.
Ask for your visitor free badge!
Full day programme on October 8th

SYNDICAT DES BIOLOGISTES

Reed Expositions



12. Anwendertreffen

LC-MS/MS in der Labormedizin

am 27. / 28. November 2014

Kloster Banz bei Bad Staffelstein



Liebe Kolleginnen, liebe Kollegen,

zum 12. Mal organisiert die DGKL-Arbeitsgruppe LC-MS/MS vom 27.-28.11.2014 ein Anwendertreffen. Veranstaltungsort ist wieder das Bildungszentrum Kloster Banz bei Bad Staffelstein in Franken (<http://www.hss.de/bildungszentren/kloster-banz.html>).

Unsere Tagung ist auf alle Anwendungen der LC-MS/MS-Technologie in diagnostischen Routineanwendungen aber auch auf die labormedizinische Forschung ausgerichtet. Das Programm wird neben Plenarvorträgen Berichte über methodische Neuerungen beinhalten. Analytische Probleme aus dem Teilnehmerkreis werden in bewährter Art wieder in offenen Diskussionsrunden thematisiert. Das Programm wird so aus ausgelegt, dass ausreichend Zeit für Gespräche und *Networking* zur Verfügung steht. Anregungen zur Programmplanung sind sehr willkommen.

Dieses Jahr wird erstmals die Möglichkeit geboten, Poster zu präsentieren. Aus den hierfür einzureichenden Abstracts werden auch Vorträge ausgewählt. Hierdurch möchten wir als einen Schwerpunkt der Veranstaltung insbesondere den wissenschaftlichen Nachwuchs ansprechen. Erstmals werden in diesem Zusammenhang drei Stipendien in Höhe von 300 € für Reise und Tagungsgebühr für Nachwuchswissenschaftler vergeben.

Die Veranstaltung wird mit einem Mittagessen am Donnerstag dem 27. November beginnen und ebenfalls mit einem Mittagessen am nächsten Tag enden. Der Tagungsbeitrag beträgt 180 €; dies beinhaltet die Unterbringung im Bildungszentrum sowie die Mahlzeiten.

Anmelden können sie sich per E-mail unter michael.vogeser@med.uni-muenchen.de; bitte warten Sie damit nicht zu lange, da die Teilnehmerzahl auf 120 begrenzt ist. Erst mit Eingang der Zahlung ist die Anmeldung gültig.

Die Zahlung erfolgt bitte auf das Konto 100 200 40 bei der Bayerischen Landesbank München, Kontoinhaber: Klinikum der Universität München, Großhadern, Finanzreferat, Verwendungszweck: Finanzstelle 81322000-G, Name des Überweisenden, Anwendertreffen 2013 (IBAN Nr. de26 7005 0000 0010 0200 40; BIC BYLADEMMXXX). Eine Teilnahmebestätigung mit Zahlungsnachweis wird bei der Veranstaltung ausgegeben. Eine Rechnung kann vorab nicht gestellt werden.

Anmeldeschluss ist der 30. Oktober 2014; sollten mehr Anmeldungen eingehen als Tagungsplätze zur Verfügung stehen, gilt das Datum der Überweisung.

Wir freuen uns wieder auf eine interessante und angenehme Tagung mit Ihnen,

Uta Ceglarek für die

Arbeitsgruppe LC-MS/MS der DGKL

(U. Ceglarek, U. Kobold, R. Schreiner, M. Rauh, Ch. Seger, M. Vogeser, G. Zurek)

Abstracts und Fragen bitte an: Uta.Ceglarek@medizin.uni-leipzig.de



Schweizerische Gesellschaft für Klinische Chemie
Société Suisse de Chimie Clinique
Società Svizzera di Chimica Clinica

Jahresversammlung

**Schweizerische Gesellschaft
für Klinische Chemie**

29.–31. Oktober 2014

Congress Center Basel



Motto

Die Rolle der Klinischen Chemie in der modernen Medizin

Themen

- Labormedizin – weg vom Produzieren von Resultaten zu patientenorientierten Befunden
- Referenzbereiche – Ermittlung, Verifizierung und Anwendung
- Notfallanalytik – die Rolle der Klinischen Chemie in der Notfallmedizin
- POCT – Konkurrenz zum Zentrallabor
- Präanalytik – immer wieder eine neue Herausforderung

Mehr Informationen unter
www.congex.ch/sgkc2014

EuroLabFocus News

The 3rd EFLM-UEMS Congress

Laboratory Medicine at the Clinical Interface

Liverpool, UK • 7-10 October 2014

Issue 2 • March 2014

Dates for your diary:
Abstract submission deadline – 23 May 2014
Early registration deadline – 1 August 2014

Our second newsletter focuses on a diverse scientific programme that explores clinical practice across Europe. Where do our practices differ? What can we learn from each other? The unique selling point is a series of topics of relevance at the interface between the laboratory and the patient. Indeed we have a patient presenting and are actively pursuing patient involvement in the meeting as attendees; Wednesday 8th October is particularly designed with this in mind.

Individual discipline updates on 2014's hot topics are included, the choice of topics reflecting service delivery issues across laboratory medicine. The main programme over 7th – 10th October is supplemented over 6th – 7th October by emerging topics of relevance to both training and continuous professional development. Discounted rates are offered to those wishing to attend the full 5 day programme.

Oral presentations will close individual symposia. Submit an abstract by the 23rd May closing date, and you may be asked to present if on a complementary theme; presenters in the clinical cases session will also be chosen in this way. This opportunity should appeal to younger presenters across the EU Community.

After a highly successful venture in Dubrovnik 2012, poster rounds over lunchtime led by a facilitator comparing outcomes presented across a range of posters under a specific theme will be included. These sessions attracted large numbers of participants (specialists in their fields, poster presenters, and individual delegates).

Posters will be presented amongst the commercial exhibition. We were delighted with early commercial partner support offered by Roche Diagnostics, Abbott Diagnostics, Beckman Coulter and Randox. Industry Sponsored Workshops are an integral part of the programme, we would also welcome Industry Sponsored Workshops being presented by successful business ventures from laboratories not part of the diagnostics industry. What can others learn from your experience, what has been learned in turn by the venture, what determines success or failure?

Save the date, spread the word! We look forward to seeing you in Liverpool.

See the full programme at:
www.eurolabfocus2014.org

 @EuroLabFocus



We are grateful to the following for their support for this conference:

Commercial Partners:

Veranstaltungskalender

DATUM, ORT	VERANSTALTUNG
01.10.-03.10.2014 Madrid (Spain)	International Conference on Antimicrobial Research
05.10.-09.10.2014 Dresden	4. Gemeinsame Tagung von DGHM und VAAM / 66. DGHM-Jahrestagung
07.10.-10.10.2014 Liverpool (UK)	EuroLabFocus - The Patient & Laboratory Medicine
09.10.-11.10.2014 Düsseldorf	Herbsttagung und Jahrestagung der Arbeitsgruppe Rhythmologie der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung e.V.
10.10.-11.10.2014 Mainz	14. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Akkreditierten Laboratorien (AAL)
10.10.-14.10.2014 Hamburg	Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie 2014
15.10.2014 Berlin	WOKwissen Fachkonferenz „Herausforderung Krankenhauslabor“
19.10.-21.10.2014 Hamburg	16. Hamburger Symposium über Tumormarker 2014
27.11.-28.11.2014 Bad Staffelstein	12. Anwendertreffen LC-MS/MS in der Labormedizin
24.02.-27.02.2015 Düsseldorf	59. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostasenforschung (GTH)
11.03.-13.03.2015 München	9. Deutsches BioSensor Symposium (DBS) 2015
18.03.-19.03.2015 Helsinki (Finland)	ChemBio Finland
18.03.-21.03.2015 Bochum	25. Jahrestagung der Gesellschaft für Virologie e.V. (GfV)

Weitere Informationen zu den Veranstaltungen finden Sie unter www.dgkl.de.



In den Mühlenkreiskliniken ist das Johannes Wesling Klinikum Minden als akademisches Lehrkrankenhaus der Medizinischen Hochschule Hannover ein Krankenhaus der vierten Anforderungsstufe mit 17 Fachabteilungen/Kliniken, 1 Belegarztklinik und 4 Instituten. Im April 2008 ist ein nach modernsten baulichen und strukturellen Vorgaben konzipierter Neubau mit 864 Betten bezogen worden.

Wir suchen für das Institut für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie, Hygiene, Umweltmedizin und Transfusionsmedizin am Standort Minden zum nächstmöglichen Termin einen

Facharzt (m/w)
für Laboratoriumsmedizin oder

Weiterbildungsassistenten (m/w)
für Laboratoriumsmedizin oder

Klinischen Chemiker (m/w)
mit fundierten labormedizinischen Kenntnissen

Das Labor versorgt neben den Mühlenkreiskliniken auch externe Krankenhäuser, Rehakliniken, öffentliche Dienststellen und niedergelassene Kollegen. Das Labor umfasst alle Bereiche der Labormedizin mit Klinischer Chemie, Hämatologie mit Durchflusszytometrie, Hämostasiologie, Sero- logie und Immunologie, Mikrobiologie und Transfusionsmedizin mit angeschlossener Blutbank. Im Labor werden an drei Standorten insgesamt ca. 7 Mio. Einzelanalysen jährlich erbracht. Dem Institut angegliedert ist die Krankenhaushygiene. Das Labor verfügt an allen Standorten über eine neue EDV-Struktur für alle Teilbereiche sowie moderne Geräteplattformen.

Der Chefarzt des Institutes verfügt über die Weiterbildungsermächtigung im Gebiet Laborato- riumsmedizin, die Leitende Oberärztin hat die Weiterbildungsermächtigung im Bereich Medizi- nische Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie beantragt.

Der Stellenschlüssel umfasst 1-2-2, 75 akademische Mitarbeiter und ca. 70 MTA in den verschiedenen Laborbereichen.

Die Vergütung richtet sich nach dem TV-Ärzte bzw. dem TVöD-K für Klinische Chemiker.

Im Interesse der beruflichen Gleichstellung werden Bewerbungen von Frauen und Schwerbehinderten bei gleicher Eignung bevorzugt berücksichtigt.

Weitere Informationen finden Sie unter www.muehlenkreiskliniken.de

Ihre ausführliche schriftliche Bewerbung richten Sie bitte innerhalb von drei Wochen per E-Mail an bewerbermanagement@muehlenkreiskliniken.de oder per Post an

Mühlenkreiskliniken
– Johannes Wesling Klinikum Minden –
Personalabteilung
Hans-Nolte-Str. 1
32429 Minden

Ihr Ansprechpartner:

Herr Ph. D.
Prof. Dr. med. F.-J. Schmitz
Tel.-Nr.: 0571/790-54800



In guten Händen.



Das Ortenau Klinikum verfügt über 1.710 Planbetten an neun Klinikstandorten und versorgt mit rund 5.000 Mitarbeitern jährlich mehr als 75.000 Patienten stationär. Zudem bieten wir für 350 Bewohner ein Zuhause in unserem Pflege- und Betreuungsheim. Träger ist der Ortenaukreis.

Gestalten Sie Ihre berufliche Zukunft mit uns.

Zum 1.10.2014 haben wir folgende Stelle im **Ortenau Klinikum** zu besetzen:

Facharzt m/w für Laboratoriumsmedizin, als Oberarzt

An den neun Klinikstandorten werden sechs Labore vorgehalten. Dem Ortenau Klinikum gehören auch mehrere Medizinische Versorgungszentren an. Hauptdienstszitz wäre das Zentrallabor am Ortenau Klinikum Offenburg. Die Laborabteilung verfügt über ein weites Spektrum der Labormedizin (Klinische Chemie, Hämatologie, Hämostaseologie, Immunologie, Toxikologie, Mikrobiologie und ein Blutdepot).

Wir wünschen uns eine fachlich qualifizierte Persönlichkeit mit langjähriger klinischer Erfahrung, die in der Lage sein sollte, den Chefarzt zu vertreten und das parallel betriebene Labor des MVZ mitzubetreuen. Das vorhandene Spektrum sollte erweitert und standortübergreifend optimiert werden.

Für weitere Auskünfte steht Ihnen der Chefarzt Herr Dr. M. Elgas, Tel. 0781 472-8497, gerne zur Verfügung.

Wir bieten Ihnen in der genannten Position ein vielseitiges und anspruchvolles Behandlungs- und Aufga- benspektrum in einem modernen Gesundheitsunternehmen mit einem familienfreundlichen Arbeits- platz mit Kindertagesstätte auf dem Klinikgelände.

Eine kontinuierliche Personalentwicklung, mit der wir Ihre berufliche Entwicklung begleiten, ist ebenso in unseren Führungsleitlinien verankert wie eine betriebliche Gesundheitsvorsorge.

Neben einer guten Infrastruktur bietet der Ortenaukreis aufgrund der bevorzugten Lage zwischen Rhein und Schwarzwald auch einen hohen Freizeit- und Erholungswert.

Haben wir Ihr Interesse geweckt? Dann freuen wir uns auf Ihre aussagekräftigen Bewerbungsunterla- gen, die Sie bitte **bis drei Wochen nach Erscheinen dieser Anzeige** richten an:

Ortenau Klinikum Offenburg-Gengenbach
Personalabteilung
Postfach 2440 · 77654 Offenburg
personalabteilung@og.ortenau-klinikum.de
www.Ortenau-Klinikum-Ärztstellen.de



Die **HELIOS Kliniken Schwerin** sind ein Krankenhaus der Maximalversorgung mit über 1.400 Betten und Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Rostock.

Das **Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin** fungiert als Zentrallabor der HELIOS Kliniken Schwerin und versorgt darüber hinaus zahlreiche Kliniken der Region mit Laborleistungen. Gegenwärtig werden pro Jahr zirka 3 Millionen Analysen durchgeführt. Unser Leistungsspektrum umfasst die gesamte Labordiagnostik mit den Fachbereichen Klinische Chemie, Mikrobiologie, Transfusionsmedizin und Toxikologie. Seit 2005 ist unser Qualitätsmanagementsystem gemäß DIN EN ISO 9001:2008 durch den TÜV Süd zertifiziert. Im Institut bestehen Befugnisse zur Weiterbildung in den Gebieten Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Transfusionsmedizin. Zum nächstmöglichen Termin suchen wir einen

○ Oberarzt (w/m) für Laboratoriumsmedizin

Ihre Aufgaben:

Zu Ihrem Aufgabengebiet gehört die Betreuung und Weiterentwicklung der Labordiagnostik in allen Bereichen des Labors mit dem Schwerpunkt Klinische Chemie. Idealerweise besitzen Sie Spezialkenntnisse in der hämatologischen Diagnostik einschließlich der Durchflusszytometrie. Nach einer umfassenden Einarbeitung nehmen Sie an den Wochenend- und Rufbereitschaftsdiensten des Instituts teil. Zusätzlich besteht die Möglichkeit zur mikrobiologischen oder transfusionsmedizinischen Weiterbildung.

Ihr Profil:

Wir suchen eine/n erfahrene/n und selbständig arbeitende/n Fachärztin/Facharzt für Laboratoriumsmedizin. Sie besitzen einen zielgerichteten, kooperativen Führungsstil sowie die Fähigkeit, Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter zu motivieren und weiterzuentwickeln. Wir erwarten außerdem ein hohes Maß an Verantwortungsbewusstsein, Engagement und Flexibilität.



Erste Auskünfte erteilt Ihnen gern der Chefarzt des Institutes für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Herr Dr. med. Lutz Briedigkeit, unter der Telefonnummer (0385) 520-24 10 oder per E-Mail unter lutz.briedigkeit@helios-kliniken.de.

Senden Sie uns bitte Ihre Bewerbungsunterlagen über unser unten genanntes Karriereportal oder an die u.a. E-Mail-Adresse oder per Post an

HELIOS Kliniken Schwerin

Leiterin Abteilung Personal und Recht, Frau Anne Müller
Wismarsche Straße 393-397 · 19049 Schwerin
E-Mail: personalwesen.schwerin@helios-kliniken.de

Details zur Stellenausschreibung, ein Portrait über Klinik und Region sowie Informationen zum Arbeitgeber HELIOS finden Sie in unserem Karriereportal: **www.helios-kliniken.de/jobs** unter der Stellennummer **7572**



EINFACH. GUT. VERNETZT.

Die OSM Gruppe ist einer der führenden Anbieter zukunftssicherer Softwarelösungen im Gesundheitswesen. Seit 20 Jahren konzentriert sich die OSM Gruppe auf die Entwicklung leistungsstarker Lösungen für das Labor, die Blutspende, die Stationskommunikation und die Systemintegration. Mit dem Fokus auf Wirtschaftlichkeit und Qualität werden hohe Anforderungen an die IT im Gesundheitswesen gestellt, für die die OSM Gruppe innovative Ideen und Technologien bereitstellt, die sich sinnvoll ergänzen. Die OSM Gruppe setzt sich aus den Unternehmen OSM Gesellschaft für offene Systeme in der Medizin mbH, ixmid Software Technologie GmbH, IMP Computersysteme AG und der OSM Vertrieb GmbH zusammen. An vier Standorten in Deutschland werden 160 Mitarbeiter beschäftigt.

Gesamtheitliches und integratives Labormanagement

Das moderne Labormanagementsystem Opus::L unterstützt die Bereiche Klinische Chemie, Mikrobiologie, Immunhämatologie, zertifizierte Abrechnung und Transfusionsmedizin in Krankenhaus- und Facharztlaboratorien ebenso wie in MVZ und Laborgemeinschaften.

Das mandantenfähige Verwaltungsprogramm Opus::L/OrderLab sichert die Qualität der Materialverwaltung Ihres Labors bei Bestellungen von Materialien, Chargen und Gefahrstoffen.

Eine schnelle Aufklärung kritischer, rechtsmedizinischer Fälle wird durch Opus::L/Rechtsmedizin unterstützt. Arbeitsabläufe werden erheblich vereinfacht und die Qualität der rechtsmedizinischen Dokumentation verbessert sich deutlich.

Das elektronische Leistungsverzeichnis Opus::L/LabIndex informiert die Einsender über alle Laborleistungen. Ergänzende Informationen und Rechenhilfen optimieren die Prozesse in der Präanalytik.

Klinische Kommunikation und intelligente Vernetzung

In der Routine stehen oft viele leistungsfähige Systeme nebeneinander. Die Fäden müssen je-

Erleben Sie uns auf www.osm-gruppe.de!



Multimandantes Labormanagementsystem
– eine runde Sache!

doch an einer Stelle zusammenlaufen. ixserv bietet Lösungen für einen sektorübergreifenden, sicheren und effektiven Datenaustausch.

Transfusionsmedizin auf hohem Niveau

Das Opus::L Blutspende-Informations- und Dokumentationssystem bietet exzellente und zuverlässige Lösungen für transfusionsmedizinische Einrichtungen jeder Größe, seien es Universitätskliniken, überregionale Spendedienste oder Eigenblutspenden.

Point-of-Care-Diagnostik

Mit Poptopus® können gleichzeitig mehrere Kliniken und selbst komplexe Strukturen und Firmierungen über die integrierte Mandantenfähigkeit unterstützt werden. Als herstellerübergreifende und geräteunabhängige Lösung ermöglicht Poptopus® damit den Anschluss, die Steuerung und Kontrolle aller gängigen POCT-Geräte in Kliniken unterschiedlichster Größenordnungen.

„Höchste Qualität, Zuverlässigkeit und Wirtschaftlichkeit sind die Werte, an denen wir uns messen lassen“, so Jacqueline Savli, Geschäftsführerin der OSM Vertrieb GmbH.

Wünschen Sie weitere Informationen? Sprechen Sie uns bitte an: vertrieb@osm-gruppe.de