

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

### PRÄSIDIUM

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

### GESCHÄFTSSTELLE

Dr. Roland Augustin  
Geschäftsstelle DGKL  
Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn  
Telefon: 0228 - 92 68 95-13  
e-mail: sekretariat@dgkl.de

Geschäftsstelle Berlin  
Alt Moabit 96, 10559 Berlin  
Telefon: 030 - 39 40 54 15  
e-mail: berlin@dgkl.de

### STÄNDIGE KOMMISSIONEN

Kommission für die Weiterbildung und Anerkennung als klinischer Chemiker	Prof. Dr. med. Hannsjörg Baum, Ludwigsburg
Kommission für die Ausbildung	Univ.-Prof. Dr. med. Cornelius Knabbe, Bad Oeynhausen

### REFERENZINSTITUT FÜR BIOANALYTIK

Geschäftsstelle Dr. Rolf Kruse  
Dr. Wolf-Jochen Geilenkeuser  
Dr. Anja Kessler  
Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn  
Telefon: 0228 - 92 68 95-0  
Telefax: 0228 - 92 68 95-29

Wissenschaftlicher Beirat Univ.-Prof. Dr. med. Cornelius Knabbe, Bad Oeynhausen

### MITTEILUNGEN

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

# INHALTSVERZEICHNIS

---

## AUS DEM PRÄSIDIUM

Gesundheits IT - Chance für eine zukunftsorientierte Versorgung? 115  
 Univ.-Prof. Dr. Michael Neumaier, Mannheim; PD Dr. Matthias Orth, Stuttgart  
 PD Dr. Thomas Streichert, Köln

Euromedlab Paris 2015 118  
 Univ.-Prof. Dr. Berend Isermann, Magdeburg; Univ.-Prof. Dr. Michael Neumaier, Mannheim;  
 Dr. Anja Kessler, Bonn

Treffen des DGKL-Präsidiums und des BDL Vorstandes 122  
 am 28. Mai 2015 in der DGKL-Geschäftsstelle in Berlin  
 PD Dr. Matthias Orth, Stuttgart

## AUS DER GESCHÄFTSSTELLE

Der Countdown läuft: Die 12. DGKL Jahrestagung in Leipzig 126  
 steht unmittelbar bevor!

Prof. Dr. Hannsjörg Baum neuer Vorsitzender der Weiterbildungskommission 128  
 zum Klinischen Chemiker

Erratum Protokoll der DGKL Mitgliederversammlung 129  
 am 26. September 2014 in Mannheim

## AUS DEM REFERENZINSTITUT FÜR BIOANALYTIK

Kundenzufriedenheitsumfrage 2015 130  
 des Referenzinstituts für Bioanalytik

RfB-Ringversuchsheft 2016 mit RiliBÄK-konformer Struktur 132  
 und neuen Ringversuchen

## AUS DER GESELLSCHAFT

5. Workshop der Sektion Endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik der DGKL 134  
 Prof. Dr. Jürgen Kratzsch, Leipzig; Dr. Martin Bidlingmaier, München

Molekulare labormedizinische Diagnostik im peripheren Blut und in Körperflüssigkeiten 139  
 Univ.-Prof. Dr. Michael Neumaier, Mannheim; Prof. Dr. Stefan Holdenrider, Bonn

Forschungsbericht 149  
 Untersuchung der spezifischen Endothel-Interaktion von Streptococcus  
 gallolyticus subsp. gallolyticus in der infektiösen Endokarditis  
 Tanja Vollmer, Melanie Weinstock, Jens Dreier, Cornelius Knabbe

Dissertation	
Einfluss von körperlicher Aktivität und Schonverhalten auf den Tryptophanstoffwechsel und den Zytokinstatus bei Patienten mit Depressionen oder somatoformer Störung	161
Verena Beatrice Kirnich, geb. Selberdinger, München	
Dissertation	
Entwicklung, Validierung und Anwendung einer HPLC-MS/MS-Methode zur quantitativen Bestimmung von Tryptophan und seinen Metaboliten	165
Gregor Alexander Schütze, München	
Dissertation	
Entwicklung und Prüfung eines LC-ESI/MS/TOF-Verfahrens für die toxikologische Analytik im Akutkrankenhaus	168
Birgit Henschel, München	
Dr. Lutz Schwettmann Präsident der NSMB	171
Prof. Dr. Ralf Lichtinghagen, Hannover	
<b>VERANSTALTUNGEN</b>	
Networking der Gesundheitspolitik - 8.000 Teilnehmer beim 18. Hauptstadtkongress	172
Dr. Gesa Albert, Berlin	
Laborleitertreffen Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen-Anhalt 2015; Dr. Klaus-Günter Heinze, Berlin	176
„Labor und Klinik“ - Eine Ausstellung zur Leipziger Universitätsmedizin im 19. Jahrhundert; Prof. Dr. Ulrich Johannes Schneider, Leipzig	184
Pathology and Laboratory Medicine 18-21 November 2015, Cancun - Mexico	187
3. Mitteldeutsche Laborkonferenz vom 26. bis 28. Mai 2016 in Dresden	188
Veranstaltungskalender	189
<b>PERSONALIA</b>	
Neue Mitglieder, Verstorbene Mitglieder	191
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
SCHRIFTLLEITUNG	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	Silke Wiesemann und Vanessa Dietrich
LAYOUT & ANZEIGENVERWALTUNG	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

## Gesundheits IT - Chance für eine zukunftsorientierte Versorgung?

Matthias Orth, Thomas Streichert, Michael Neumaier

Für das Präsidium der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL) e.V.

Die Bedeutung der qualifizierten labormedizinischen Diagnostik nimmt in der heutigen Hochleistungsmedizin stetig zu. Dies ist besonders unserem rasch wachsenden Wissen um die Krankheitsmechanismen und –zusammenhänge geschuldet und hilft im Verständnis genetischer und biochemischer Details, die notwendig sind, Krankheiten früher zu erkennen sowie spezielle – personalisierte – Therapien zu schaffen und zu nutzen. Labormedizinische Befunde sind eine wesentliche „actionable health information“, auf ihnen basieren rund 70% aller medizinischen Behandlungsentscheidungen.

Laborbefunde werden auf mannigfaltige Weise und in vielen Formaten, traditionell zwischen Laborärztin/ Laborarzt und Ärztin/ Arzt, übermittelt. Entsprechend sind Laborbefunde, die im Krankenhaus oder ambulant erhoben werden, ein wichtiger Teil jedes Arztbriefes. In der Richtlinie der Bundesärztekammer (RiLiBÄK) sind klare Mindestanforderungen an die Laborbefundgestaltung definiert. Die seit Jahren etablierte anspruchsvolle Qualitätssicherung in der Labormedizin gewährleistet die Kommunikation „Labor-an-Praxis bzw. Krankenhaus“ auf hohem Niveau. Die weitere Übermittlung

der Laborbefunde von „Fachärztin/Facharzt zu Fachärztin/Facharzt“ geschieht meist auszugsweise, in den Arztbrief integriert. Händische Übertragungsfehler oder fehlerhafte Zuordnungen sind dabei nicht selten. Die Nutzung moderner IT für den interdisziplinären Austausch könnte hier eine Vielzahl von Fehlern vermeiden.

Angesichts einer zunehmenden digitalen Vernetzung zielt das Bundesministerium für Gesundheit mit dem Gesetz für sichere digitale Kommunikation und Anwendungen im Gesundheitswesen (e-Health) auf eine verbesserte, sichere Kommunikation der Ärzteschaft untereinander.

Eine gänzlich neue Dimension der Herausforderung entsteht durch den Willen des Gesetzgebers, den Patienten als Adressat von (Labor)-Befunden direkt einzubinden. Dies hat natürlich die Stärkung des selbstbestimmten, aktiven Patienten im Blick und soll Grundlage einer elektronischen Patientenakte sein. Mit dieser ist jeder Patient über seine Diagnose und Therapie informiert und kann besser in die ihn betreffenden Entscheidungsprozesse eingreifen. Die Einbindung ist aus unserer Sicht grundsätzlich zu begrüßen, hat dies doch unter bestimmten Voraus-

setzungen das Potenzial zur Verbesserung der Qualität in der Gesundheitsversorgung der Bevölkerung. Wenn vom sogenannten mündigen Patienten gesprochen wird, fällt rasch der Begriff der P3-Medizin (prädiktiv, personalisiert, präventiv), ein Konzept, welches bisher wenig erfolgreich ist, weil es den Patienten als handelnde Person nicht mit einschließt. Zum Beispiel wissen wir alle zweifelsfrei, dass Alkohol, Rauchen, Übergewicht, Fehlernährung und fehlende Bewegung die Gesundheit erheblich schädigen. Dennoch ändert sich unser Gesundheitsverhalten oft nicht oder nur sehr langsam. Grund hierfür ist eine fehlende „Partizipation“ – also das vierte P einer P4-Medizin. Diese setzt auf Selbstmotivation und gilt als Voraussetzung für eine erfolgreiche Einbindung der Patienten in die Bemühungen der Medizin zur Salutogenese.

Der Hype um trendige Gesundheits-Apps und Biochemie-Sensoren (wie die Blutzuckermessende Kontaktlinse, welche ihre Werte drahtlos auf PC oder Smartphone überträgt) zeigt, dass der moderne Mensch ein großes (und zunehmend gezielt gewecktes) Interesse am Monitoring seiner „Gesundheitsdaten“ hat. Neben Blutdruck und Puls aus der Smart-Watch schließt dies auch Laborwerte ein und kann, außerhalb des Gesundheitswesens, eine zunehmend ungeordnete Realität erzeugen. Dabei birgt die Konfrontation des Patienten mit seinen Befunden als Konsequenz der gewollten IT-vermittelten

Einbindung neben neuen Chancen automatisch auch ernste Probleme (dabei bedarf es gar nicht tragischer Fälle, wie dem des Patienten, der Selbstmord beging, nachdem er einen „negativen HIV-Befund“ erhalten hatte).

So können Ärztinnen und Ärzte sowie Patientinnen und Patienten Befunde aus unterschiedlichen Laboren erhalten. Diese beinhalten nicht zwingend gleiche Bezeichnungen für denselben Analyten, die gleiche Messmethodik, gleiche Maßeinheiten und identische Referenzbereiche: Die Bezeichnung für Vitamin D kann in einem Labor „25-Hydroxycholecalciferol“, in anderen „Calcidiol“, „25-OH-Vitamin D“ oder „Vitamin D“ lauten. Es sind zudem mindestens sechs verschiedene Messmethoden üblich, die in unterschiedlichen Einheiten wie „mmol/l“ oder in „µg/l“ berichtet werden. Kein Patient wird mit diesen unterschiedlichen Zusammenhängen umgehen können. Gerade bei IT-gestützter Archivierung möglicherweise über Jahre sind Interpretationen und Verlaufsbeurteilungen drängende Fragen, die sich im Umgang mit den Befunden stellen. An wen soll der Patient diese adressieren? Auch Ärztinnen und Ärzte bedürfen für komplexe Laborkonstellationen oft der Expertise der Laborärztin und des Laborarztes.

Schließlich sind regulatorische Vorgaben ebenfalls zu berücksichtigen. Es muss bei Verlaufsdarstellungen klar erkennbar sein, welche Laborbefunde qualitätsgesichert

erhoben wurden und welche z.B. in Apotheken oder anderen „direct-to-consumer“-Anbietern (außerhalb der Heilkunde ist keine Sicherung der Analysequalität verpflichtend) erhoben wurden. Die gemeinsame Darstellung von Analyseresultaten unterschiedlicher Qualität eliminiert den medizinischen Nutzen von Verlaufsdarstellungen und führt bei der Interpretation gegebenenfalls in die Irre. Hiervon geht neben einem Gefährdungspotenzial auch eine nicht absehbare Kostensteigerung durch notwendig werdende Kontrollmessungen aus. Eine elektronische Speicherung von Laborbefunden muss den Patientinnen und Patienten zudem die Möglichkeit geben, selbstbestimmt Informationen über stigmatisierende Untersuchungsergebnisse zu unterdrücken. Insbesondere bei genetischen Analysen müssen die Vorgaben des Gendiagnostik-Gesetzes zu Vertraulichkeit und Datenschutz beachtet werden.

Im Sinne eines modernen Stammdatenmanagements denkt das Bundesministerium für Gesundheit an ein Interoperabilitätsverzeichnis, das die Standards verschiedener IT-Systeme transparent macht. In der Laboratoriumsmedizin ist der Umgang mit nicht kommutablen Laborwerten und Bezeichnungen ein seit langem bearbeitetes Problem. So lassen sich für viele Routineanalysen Bezeichnungen aus Katalogen (z.B. LOINC) verwenden, um beispielsweise eine einheitliche Informationsverarbeitung zu ermöglichen

und wie beim Beispiel „Vitamin D“ eine einheitliche Bezeichnung in der Akte erscheint.

Um eine laborübergreifende Interpretation und Verlaufsdarstellung von Analyseresultaten zu erreichen, können Normierungen verwendet werden, wie sie in Arbeitsgruppen der DGKL entwickelt wurden und werden. Gerade der Patient kann dann abschätzen, ob sich bei Laborresultaten leichte oder schwere relative Veränderungen ergeben. Insgesamt ergibt sich mit der Gesundheits-IT ein erheblicher Bedarf für die Abstimmung von Kommunikationsstandards und Berichtsstrukturen. Diese müssen die Patientensicherheit als oberstes Gebot haben. Die erforderlichen Expertisen hierfür sind gerade in der Laboratoriumsmedizin vorhanden.

---

VERFASSER:

Univ.-Prof. Michael Neumaier,  
DGKL Präsident

PD Dr. Matthias Orth,  
Weiteres Mitglied Präsidium

PD Dr. Thomas Streichert  
Direktor - Institut für Klinische Chemie  
Uniklinik Köln

Der Artikel ist ebenfalls in „Der gelbe Dienst“ von Vincentz Network Berlin erschienen. „Der gelbe Dienst“ erscheint 14-täglich und liefert Hintergrundinformationen aus dem Gesundheitswesen.



## Euromedlab Paris 2015



Experten der Labormedizin aus aller Welt waren vom 21. bis 25. Juni 2015 nach Paris ins Palais des Congrès zum 21. IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine eingeladen. Mit 9.600 Besuchern, wovon 4.200 als Kongressteilnehmer registriert waren, war diese für die Labormedizin wichtige Veranstaltung ein voller Erfolg.

Das Motto der Konferenz «Revolution in Lab Medicine» unterstrich die Bedeutung der Labormedizin in der Patientenversorgung und Gesundheit im 21. Jahrhundert. In diesem Sinne wurde durch ein umfangreiches Programm mit Vorträgen, Symposien, Workshops der Industrie und interaktiven Postersessions, in denen besonders die jungen Wissenschaftler aufgefordert waren, ihre Forschungsergebnisse zu präsentieren, ein Forum zur Diskussion geschaffen. Über 1.200 eingereichte Abstracts bildeten die Basis für den wissenschaftlichen Austausch. Den Eröffnungsvortrag mit dem Thema „Innate Immunity: From flies to humans“ hielt Prof. Jules Hoffmann, Nobelpreisträger für Medizin 2011. In den Plenarvorträgen spiegelten sich die Herausforderungen der Labormedizin wieder: Diabetes Mellitus (Prof. A. Hattersley), die Entwicklung des Labors (Prof. M. Panteghini), Infektionserkrankungen (Prof. E. Raout) und die Molekulare Medizin

(Prof. M. Delpech). Die Symposien umfassten darüberhinaus das große Spektrum der Labormedizin: Entwicklung der täglichen Praxis, Perspektiven in der organspezifischen Pathologie, neue Technologien sowie neue medizinische Strategien und interdisziplinäre Forschungsgebiete. IFCC und EFLM präsentierten die Arbeit der verschiedenen Divisionen im Hinblick auf die Standardisierung und die Bedeutung der Labormedizin sowie die entwickelten Ausbildungsaktivitäten.

Ergänzt wurde das wissenschaftliche Programm durch eine auffallend aufwendige und abwechslungsreiche Ausstellung der Industrie, die zahlreiche Besucher zur Information über die neuesten Produkte nutzten. Gemeinsam mit der französischen Fachgesellschaft Syndicat des Biologistes (SDB) präsentierte sich die DGKL an einem Stand und informierte über die aktuellen Projekte und Aktivitäten der deutschen Fachgesellschaft. Durch die Kooperation wurde die Möglichkeit, neue Kollegen kennenzulernen unterstützt, und es spiegelte sich der internationale und diskussionsfreudige Charakter der EuroMedLab auch an diesem Stand wider.

Am ersten Kongresstag lud die DGKL zum Symposium „Current status of the internal and external quality control in laboratory medicine exemplified by diabetes mellitus“ ein.

Die Fachgesellschaft engagiert sich in diesem Bereich seit vielen Jahren und in Zusammenarbeit mit RfB und EMQN als Organisatoren von Ringversuchen wurde dieses Thema unter dem Vorsitz von Prof. Dr. Michael Neumaier und Prof. Dr. Berend Isermann praxisbezogen vorgestellt und diskutiert.

Seit 2006 führt EMQN molekulargenetische Ringversuche für MODY durch, da die Richtigkeit der genetischen Untersuchungen, der Ergebnisinterpretation sowie der Berichterstattung essentiell für die darauf aufbauende Therapie ist. Kevin Colclough (UK) stellte in seinem Vortrag „Quality improvements in MODY diagnostic genetic testing through participation in the European Molecular Quality Network (EMQN) MODY scheme“ (Clin Chem Lab Med 2015; 53, Special Suppl, S32) dar, dass die regelmäßige Teilnahme an den Ringversuchen die Qualität und Genauigkeit der Diagnose der teilnehmenden Laboratorien verbessert und dazu beiträgt, für den Patienten schwerwiegende Fehler rechtzeitig zu erkennen.

Die Durchführung von Next Generation Sequencing (NGS) in klinischen Laboratorien steigt weltweit stetig an. Damit Anwender die Qualität der Untersuchungen bewerten und bereits vorhandene Informationen nutzen können, startete EMQN 2013 einen NGS-Pilotringversuch. Simon Patton (UK) berichtete unter dem Titel „Good or bad sequencing data? Setting a benchmark for the quality of

diagnostic NGS in the laboratory“ (Clin Chem Lab Med 2015; 53, Special Suppl, S30) über die daraus gewonnenen Erfahrungen. Er geht davon aus, dass in Zukunft krankheitsbezogene Qualitätssicherungsprogramme die Qualität der Ergebnisse und die Erstellung der Diagnose deutlich verbessern werden.

Die Einbindung von Glucose-POCT-Systemen in vorhandene Qualitätssicherungsprojekte ist derzeit unzureichend realisiert. Gerhard Schumann stellte in seinem Vortrag „Point of care testing, a challenge for quality control. Are different reference methods necessary for glucose wet tests and POCT?“ (Clin Chem Lab Med 2015; 53, Special Suppl, S31) eine analytische Strategie vor, mit der das vorhandene Referenzsystem für Glucose im Plasma genutzt werden kann, um die metrologische Rückführbarkeit von POCT-Systemen, die als Untersuchungsmaterial Vollblut verwenden, zu demonstrieren.

Biobanken sind die wichtigsten Quellen für die Entdeckung und Erforschung von Biomarkern. Daher ist ihre Integrität essentiell und eine aussagekräftige Qualitätssicherung notwendig. Michael Neumaier berichtet in seinem Vortrag „External quality assessment of biomolecular quality in clinical specimen and biobanking“ (Clin Chem Lab Med 2015; 53, Special Suppl, S29) über die Möglichkeiten, mit Hilfe von endogenen und exogenen Markern Veränderungen des biologischen Materials zu verfolgen und damit die Qualität der

Proben für weitere Forschungsprojekte frühzeitig beurteilen zu können.

Im Anschluss an das Symposium lud die DGKL alle Referenten und Teilnehmer des Symposiums zur weiteren Diskussion an den Messestand der DGKL ein. Bei Laugenbrezeln und Bier wurden die Gespräche in entspannter Atmosphäre fortgeführt.

Das Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) präsentierte sich zusammen mit DGKL und SDB am Stand. Erfreulich viele Besucher nutzten die Gelegenheit, sich über das umfangreiche Angebot und die Leistungsfähigkeit des RfB im Bereich der externen Qualitätskontrolle zu informieren. Neben den neusten Ringversuchen war das Interesse an der flexiblen Organisation und der übersichtlichen Online-Auswertung sehr groß.

Der kulturelle Höhepunkt des Rahmenprogramms fand am dritten Kongresstag im Musée d'Orsay statt. Exklusiv für die Teilnehmer hatte das Museum seine Türen am Abend geöffnet und lud zum entspannten Betrachten der weltberühmten Gemälde und Skulpturen ein. Bei Fingerfood und Champagner wurden rege Gespräche geführt und die eindrucksvolle Atmosphäre genossen.

Die Teilnehmer nutzten die EuroMed-Lab2015, um sich zu informieren und die Zukunft der Labormedizin zu gestalten. Die 22. IFCC-EFLM-EuroMedLab wird vom 11. bis 15. Juni 2017 in Athen stattfinden und erneut die Gelegenheit bieten, die erzielten Fortschritte weiter zu diskutieren.

---

VERFASSER:

Dr. Anja Kessler  
Referenzinstitut für Bioanalytik  
Friesdorfer Str. 153  
53175 Bonn

Univ.-Prof. Dr. Michael Neumaier  
DGKL Präsident

Univ.-Prof. Dr. Berend Isermann  
DGKL Vizepräsident

Impressionen EUROMEDLAB Paris 2015



## Treffen des DGKL-Präsidiums und des BDL Vorstandes am 28. Mai 2015 in der DGKL-Geschäftsstelle in Berlin

Das vollständige Präsidium der DGKL und der komplette Vorstand des BDL trafen sich, um sich über die aktuelle Entwicklung der deutschen Laboratoriumsmedizin auszutauschen. Nach der Begrüßung der Teilnehmer durch Prof. Dr. Michael Neumaier und Dr. Andreas Bobrowski erinnerten sie an das letzte Treffen unter dem Vorsitz von Prof. Dr. Karl Lackner sowie die gemeinsamen Aktivitäten zum Labor-Tag im Juni 2013.

Die Positionierung des Faches Laboratoriumsmedizin war in den vergangenen Monaten ein wichtiges Thema der Hochschulen. Prof. Neumaier berichtete vom Verabschiedungsprozess des Nationalen Kompetenzbasierten Lernzielkataloges Medizin (NKLM). Hier besteht ein deutlicher Paradigmenwechsel hin zu „Skills and Competences“ (die sich vor allem auf weiche soziologische und psychologische Inhalte beziehen) und die zusätzlich aus der akademisch geprägten, universitären Medizin die Ausbildung im Sinne einer medical school als Fachhochschule ändern möchten. Prof. Dr. Berend Isermann sprach hier das Problem der Entakademisierung der Medizin an. So waren viele naturwissenschaftlichen Fächer zu Beginn des NKLM-Prozesses im Curriculum überhaupt nicht mehr vorgesehen. Durch Intervention des Beauftragten der DGKL, Herrn Prof. Dr. Cornelius Knabbe, konnte die Laboratoriumsmedizin zumindest mit einigen Inhalten in den NKLM aufgenommen werden.

Diskussionen zur GOÄ-Novelle nahmen einen großen zeitlichen Raum ein. Da sowohl durch die vorhandenen Gebührenordnungspositionen wie auch durch die Analogziffern im Bereich der Laboratoriumsmedizin (dem sog. Kapitel M) die Patientenversorgung auch mit zeitgemäßen Methoden möglich ist, besteht hier - anders als vor allem in den chirurgischen Fächern - kein Druck auf eine Novelle der GOÄ zu drängen. Allerdings besteht v.a. im Grundlabor wegen der politisch gewollten niedrigen Vergütung im EBM2000 die Gefahr, dass bei einer GOÄ-Novelle das Kapitel M insgesamt abgewertet wird und das Geld in die „sprechende Medizin“ umgeleitet wird. Insgesamt steht der Vorwurf an den Vorstand der Bundesärztekammer im Raum, die Beteiligten nicht ausreichend eingebunden zu haben und sich zu sehr von den Interessen der „Gegenseite“ (PKV, Beihilfestellen) leiten zu lassen. Auf dem Ärztetag in Frankfurt wurde hierzu allerdings keine Resolution gegen den Vorstand der Bundesärztekammer verabschiedet, so dass dieser weiter die Verhandlungen führt. Insgesamt ist unklar, wie der weitere Prozess der GOÄ-Novelle voranschreitet. Wenn es keine Einigung auf eine Novelle gibt, würde die alte GOÄ weiter in Kraft bleiben. Nachteilig wäre dies bei der Einführung einer Bürgerversicherung (einheitliches Tarifsystem für GKV und PKV), weil dann der ständig aktualisierte EBM2000 als Tarifsystem herangezogen werden könnte und

nicht GOÄ1996. Angemerkt werden muss, dass in der Person von Prof. Krieg, der direkt von der BÄK mandatiert wurde, sehr viel labormedizinische Kompetenz in die Novelle eingeflossen ist (wie z.B. bei der Berücksichtigung der Serienlängen, der Legende von 1400 Gebührenordnungspositionen und der relativen Bewertung der einzelnen Untersuchungen). Der BDL hat mit mehreren umfangreichen Stellungnahmen den Prozess begleitet und die Beauftragten von BDL und DGKL waren auch zweimalig bei den Anhörungen in Münster anwesend.

Eine Provokation der ärztlichen Gremien scheint nicht zielführend zu sein, da der mögliche Schaden in keinem Verhältnis zu dem nur geringen Nutzen (Höherbewertung einzelner Leistungen) steht. So ist noch nicht vom Tisch, Teile des Kapitel MIII in die beziehbaren Leistungen überzuführen oder im Paragraphenteil sehr nachteilige Regelungen unterzubringen. Angemerkt werden muss dazu, dass auf Seiten der PKV eine Ausweitung der beziehbaren Leistungen unbedingt

vermieden werden will, weil eine medizinisch nicht begründbare Leistungsausweitung durch die Selbsterbringer befürchtet wird.

Auch beim nächsten Thema, der Verabschiedung der neuen MWBO kam es zu wesentlichen Verzögerungen durch die Bundesärztekammer. Die Vorschläge von Seiten der Laboratoriumsmedizin sowohl zum Curriculum des Facharztes als auch für die fachgebundene Labordiagnostik sind von der BÄK aufgenommen worden. Dazu gab es auch keine neuen Einwände der anderen Beteiligten (wissenschaftliche Gesellschaften und Berufsverbände). Laut dem Zeithorizont von Dr. Bartmann, dem beauftragten Vorstand der BÄK, ist eine Verabschiedung in den nächsten Jahren vorgesehen. Eine Herausforderung besteht in der Finanzierung der ambulanten Weiterbildung. So werden in einigen Bundesländern im Rahmen von Pilotprojekten bereits die ambulanten Assistenzärzte der Allgemeinmedizin mit je 60.000 € p.a. unterstützt.



Prof. Neumaier erwähnte die aufkeimende Kritik am DAkKS-Monopol, Prof. Dr. Dr. Klaus P. Kohse verwies auf das Akkreditierungs-gesetz. Gleichwohl würden in vielen Laborato-rien sowohl die Zeitdauer des Prozesses, die teilweise schwerlich nachvollziehbaren Auf-lagen und die Kosten für Akkreditierung und Reakkreditierung kritisch und mit der Konse- quenz der Ausgliederung von Teilbereichen aus dem Akkreditierungsprozess beantwor- tet, so Prof. Neumaier. Prof. Neumaier und Frau Prof. Dr. Uta Ceglarek diskutierten die Entwicklungen der Akkreditierung unter DIN 15189 und schilderten die Koordinationsmaß- nahmen seitens der DAkKS zur Sicherung ei- ner einheitlichen Spruch- und Beurteilung- praxis. Gerade für die InHouse-Verfahren sei nach der Novelle der IVD-Richtlinie die Akkreditierung essentiell. Dr. Michael Müller (BDL) betont, dass im Sinne des Patienten- wohls, labormedizinische Leistungen unab- hängig von der Erbringungsstelle unter den gleichen Qualitätskriterien (RiliBÄK) erbracht werden müssen und es herrschte Einigkeit, dass bei einem tatsächlichen umfassenden Vollzug der RiliBÄK die Akkreditierung mit den damit verbundenen Problemen für viele Labore in den Hintergrund treten könnten.

Für die Außendarstellung der Laboratori- umsmedizin sehr wichtig seien Studien zum Nutzen der Labormedizin, möglichst soll- te auch der Nutzen im persönlichen Um- feld von Politikern dargestellt werden, um so Empathie für die Laboratoriumsmedi- zin zu erzeugen. Für die Kommunikation

dieser Ziele gab es bereits jetzt schon eine sehr gute Zusammenarbeit zwischen Tho- mas Postina (Pressestelle BDL) und Silke Wiesemann (Geschäftsstelle DGKL), die in Zu- kunft noch deutlich vertieft werden soll. Frau Wiesemann erwähnte den jüngst wiederent- deckten Welt-Labor-Tag am 23. April jeden Jahres. Dieser Tag soll gemeinsam unter der Führung von LabsAreVital im Jahr 2016 zu Publikumsaktionen in den einzelnen Labora- torien, aber auch zu einer politischen Dar- stellung der Laboratoriumsmedizin in Berlin (analog zum Labortag 2013) genutzt werden. Hierzu werden entsprechende Kommunikati- onsmittel (Flyer, etc.) entwickelt. Wichtig sei die Darstellung der „Versorgungskette“ ein- schließlich der Ärzte im „Hintergrund“. Von Dr. Theo Stein (BDL) wurde als Aufhänger für den Nutzen der Laboratoriumsmedizin der immunologischen fecalen occulten Blut- test vorgeschlagen.

Wegen der vielen Pressemeldungen über die KBV und den SpiFA berichtete Dr. Bobrow- ski von der Genese des jetzigen KBV-Vorsit- zenden und dessen Stellvertreterin und über die Entwicklungen innerhalb des Spitzenver- bandes Fachärzte (SpiFA). Der SpiFA soll mit- telfristig die GFB ablösen. Die GFB ist die Nachfolgeorganisation der „Reichsärztekam- mer“ und vertritt u.a. die deutschen Ärzte bei den europäischen Gremien. Weil bei der Integration der Gruppe der Methodendefi- nierten Fachgebiete (AGMF: Labor, Patholo- gie, Nuklearmedizin, Radiologie, Mikrobiolo- gie) in den SpiFA diese Fächern keine echte

Entscheidungsbeteiligung hätten, sind diese Berufsverbände nicht in den SpiFA eingetreten. Prof. Kohse fragte nach der Zukunft unserer Vertretung in europäischen Gremien: Hier sei eine deutliche Verschlechterung zu befürchten und eine zukünftige Vertretung der Querschnittsfächer aus eigener Kraft anzustreben (wie die unmittelbare Mitgliedschaft bei der UEMS, ein Büro in Brüssel der DGKL wie von Prof. Isermann vorgeschlagen). Auch sei angedacht, der AGMF eine festere Struktur zu geben. Weiter sei notwendig eine intensive Auseinandersetzung mit der KBV, da viele Entscheidungen an die Bundesländer abgegeben werden und so große regionale Unterschiede entstünden.

Dr. Bernhard Wiegel (BDL) stellte die Planungen der BDL-Session anlässlich der diesjährigen DGKL Jahrestagung vor und bedankte sich ausdrücklich bei Prof. Ceglarek für die stete und prompte Unterstützung. Der BDL wird auch wieder mit einem eigenem Stand Präsenz zeigen. Gegen eine generelle Zusammenführung der Tagungen von DGKL und BDL spricht, so Dr. Stein, der „Politische Acker“ in Berlin, den es zu bestellen gilt. Dies spräche immer auch für eine Veranstaltung in Berlin, um Politikern zeitlich eine Auftrittsmöglichkeit zu geben. Die politische Arbeit wird auch das besondere Betätigungsfeld von Dr. Gesa Albert in Berlin sein.

In Erinnerung an den ersten Deutschen Kongress für Laboratoriumsmedizin 2014 bedankte sich Dr. Wiegel für die gute Betreuung und Organisation und sagte in Abstimmung

mit dem BDL-Vorstand für den DKLM2016 seitens des BDL die Teilnahme und Präsenz in mindestens gleichem Umfang zu.

Wegen der fortgeschrittenen Zeit konnte der Umgang mit MTLA mit Masterabschluss nurmehr en passant diskutiert werden, desgleichen die neue Entwicklung zum Fachapotheker für Klinische Chemie. Kurz angesprochen wurde die Notwendigkeit einer Vertretung der deutschen Interessen in internationalen Gremien (z.B. E-Learning, IFCC, etc.), wobei man sich die gegenseitigen Unterstützung zusicherte. Insgesamt zeigte das Treffen, dass dieser gegenseitige Austausch notwendig und sinnvoll ist und dass durch ein Abstimmen der Aktivitäten von DGKL und BDL das Fach deutlich gestärkt wird.

---

VERFASSER:

PD Dr. Matthias Orth

Weiteres Präsidiumsmitglied DGKL

Vorstand BDL

## Der Countdown läuft: Die 12. DGKL Jahrestagung in Leipzig steht unmittelbar bevor!

Zum 12. Mal lädt die DGKL ihre Mitglieder und die Mediziner, Naturwissenschaftler und MTLAs, die sich dem Fach verbunden fühlen, ein, um in einem weitreichenden Forum in den wissenschaftlichen und fachlichen Dialog zu treten und sich über die neuesten Forschungsergebnisse in der Laboratoriumsmedizin und Klinischen Chemie auszutauschen.

Vom 14. bis 17. Oktober 2015 findet die diesjährige Jahrestagung im Congress Center Leipzig unter der Leitung des Kongresspräsidenten, Professor Dr. Joachim Thiery statt. Das Thema des Kongresses lautet „Aktuelle Herausforderungen der Labormedizin für die Gesunderhaltung und Früherkennung von Erkrankungen“. Schwerpunktthemen sind zum einen die Labormedizin in der Gesundheitsvorsorge, die Früherkennung von Volkserkrankungen, Prüfbedingungen für neue Biomarker, die Früherkennung seltener Erkrankungen, neue Referenzwerte und aktuelle Ergebnisse aus epidemiologischen Studien.

### PROGRAMMÜBERSICHT

Das vollständige Programm für den Kongress kann unter [www.dgkl2015.de](http://www.dgkl2015.de) heruntergeladen werden.

**12. JAHRESTAGUNG**  
14. – 17. Oktober 2015  
Congress Center Leipzig



[www.dgkl2015.de](http://www.dgkl2015.de)



### TEILNEHMERREGISTRIERUNG

Teilnehmer können sich ebenfalls auf der Homepage [www.dgkl2015.de](http://www.dgkl2015.de) unmittelbar registrieren lassen. Dort sind auch verschiedene Hinweise zur Anreise (Bahn-Special) sowie zur Unterbringung in Leipzig aufgeführt. Im Anschluss an die Registrierung erhalten die Teilnehmer den DGKL-Reiseführer „3 Tage Leipzig“ zur Einstimmung auf den Kongressstandort.

### AGS & SEKTIONEN

Viele Arbeitsgruppen und Sektionen haben sich dem Wunsch der Kongressleitung angeschlossen und ihre Sitzungen im Rahmen der Jahrestagung bereits auf den Mittwoch, 14. Oktober 2015, gelegt. Damit haben auch die AG- und Sektionsmitglieder die Möglichkeit, an dem kompletten Kongressprogramm teilzunehmen. Die Sitzungen der Arbeitsgruppen und Sektionen finden alle

auf dem Gelände der Universität Leipzig und nicht im Congress Center statt. Eine genaue Einladung mit Ort und Uhrzeit wird seitens der AG- und Sektionsleiter separat an die Teilnehmer verschickt.

### MITGLIEDERVERSAMMLUNG

Wichtige Wahlen und Entscheidungen stehen bei der Mitgliederversammlung am Freitag, 16. Oktober 2015, ab 18.15 Uhr im Saal 4 des Congress Centrums an. Die Einladungen hierfür haben die Mitglieder der DGKL bereits auf dem Postweg erhalten. Bei den Wahlen stehen neben der Wahl des Präsidenten auch die des Vizepräsidenten und des Schriftführers auf der Agenda.

### GESELLSCHAFTSABEND

Für den feierlichen Abschluss der Jahrestagung am Freitag, 16. Oktober 2015, hat das Organisationsteam rund um Professor Thiery eine besondere Location in Leipzig ausgesucht. Im Gondwanaland im Leipziger Zoo lassen die Teilnehmer umgeben von den tropischen Regenwäldern Afrikas, Asiens und Südamerikas und 100 exotischen Tierarten und mehr als 500 verschiedenen Baum- und Pflanzenarten die Jahrestagung in einer außergewöhnlichen Atmosphäre ausklingen.

### PREISTRÄGERTISCH

An einem Preisträgertisch werden beim Gesellschaftsabend auf Einladung der DGKL und der Firma Neumann & Kindler die Preisträger der Poster- und Vortragspreise der vergangenen zwei Jahre sowie die aktuellen Preisträger Platz nehmen, um untereinander Kontakte zu knüpfen und ihr Netzwerk in die Fachgesellschaft auszubauen.

### ÖFFENTLICHKEITSVERANSTALTUNG

Um neben den Kongressbesuchern auch das interessierte Publikum in Leipzig anzusprechen, wurde das Programm um ein Öffentlichkeits-Symposium am Freitag Nachmittag, von 15 bis 16.30 Uhr, im Congress Centrum erweitert. Hierbei werden die Auswirkungen des neuen e-Health-Gesetzes auf die Labormedizin und auf den Patienten im Mittelpunkt einer Diskussionsrunde mit fünf Teilnehmern stehen. Ein Thema, das in Zukunft insbesondere das Verhältnis zwischen den Laboren, den klinischen Kollegen und den Patienten eine bedeutende Rolle spielen wird.



## Prof. Hansjörg Baum neuer Vorsitzender der Weiterbildungskommission zum Klinischen Chemiker

Nach dem Ausscheiden von Prof. Dr. Ingolf Schimke und Dr. Gerhard Weidemann aus der Weiterbildungskommission wurde auf der Sitzung am 07. Juli 2015 Prof. Dr. Hansjörg Baum zum neuen Vorsitzenden der Kommission gewählt. Prof. Baum ist als Ärztlicher Direktor des Zentrums für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Blutdepot der Regionalen Kliniken Holding RKH GmbH tätig.

Das Amt des Stellvertreters wurde von Prof. Dr. Ralf Lichtinghagen, Leitender Klinischer Chemiker des Instituts für Klinische Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover, übernommen. Als weitere Mitglieder bleiben, wie bisher, Prof. Dr. Matthias Nauck, Institutsleiter des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Greifswald und Prof. Dr. Uta Ceglarek, Leitende Klinische Chemikerin des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik des Universitätsklinikum Leipzig. Sie vertritt gleichzeitig das DGKL-Präsidium in der Weiterbildungskommission.

Als weiteres Mitglied wurde Dr. Thorsten Hoff vom Klinikum Bremen-Nord seitens des Präsidiums berufen. Dr. Hoff wird sich im Rahmen des nächsten Treffens der Weiterbildungskommission auf der DGKL Jahrestagung in Leipzig dort zur Wahl stellen.



Einen großen Schritt wurde auch im Rahmen der Verwaltung der Unterlagen der Klinischen Chemiker unternommen. Nachdem sich Dr. Weidemann Jahrzehnte mit großem Engagement um die Anmeldungen und Verwaltung der Unterlagen der Klinischen Chemiker kümmerte, wurden diese nach seinem Ausscheiden aus dem Amt des Sekretärs der Weiterbildungskommission digitalisiert, um für die Zukunft für die DGKL Geschäftsstelle wie auch für die Mitglieder der Kommission jederzeit verfügbar zu sein. Diese Gelegenheit wurde auch genutzt, um einen Überblick über die sich in Weiterbildung befindlichen Klinischen Chemiker sowie die Weiterbildungszentren zu schaffen.

Für die aktuellen Anmeldungen und Registrierungen wurde ebenfalls eine Neuerung eingeführt: Sie laufen mittlerweile online über die Eingabemaske auf der DGKL Homepage ab, so dass künftig alle Unterlagen digital

vorliegen. Diese Digitalisierung und ebenso die Zentralisierung sämtlicher Unterlagen in der DGKL Geschäftsstelle soll für die Zukunft eine zunehmende Transparenz über die Weiterbildung schaffen.

Abschließend geht ein ganz besonderer Dank – auch im Namens des Präsidiums – für ihr langjähriges Engagement an Prof. Schimke und Dr. Weidemann, die mit großem,

ehrenamtlichen Einsatz die Weiterbildungskommission und ihre Arbeit geprägt haben.

Als neuer Termin für die Prüfung zum Klinischen Chemiker wurden der 22. und 23. Oktober 2015 festgelegt.

## Erratum Protokoll der DGKL Mitgliederversammlung am 26. September 2014 in Mannheim

Zu dem Protokoll der DGKL Mitgliederversammlung 2014 am 26. September 2014 in Mannheim, das in der Ausgabe IV/2014 der Klinischen Chemie Mitteilungen veröffentlicht wurde, muss folgendes Erratum erfolgen:

Anders als im Protokoll veröffentlicht, wurde bei der Abstimmung zu **TOP 9** über die **Änderung der Weiterbildungsordnung** entschieden. Hier haben sich 20 der anwesenden 93 Mitglieder gegen den Antrag ausgesprochen, 11 haben sich enthalten. 62 Mitglieder stimmten für diesen Antrag. Damit gilt der Änderungsvorschlag als angenommen.

Unter **TOP 10** wurde die **Änderung der DGKL-Satzung** beschlossen. Hier ergab die

Abstimmung 73 Stimmen für den Antrag, 5 Gegenstimmen und 15 Enthaltungen. Somit war mit 78 Prozent der anwesenden stimmberechtigten Mitglieder die nach der DGKL-Satzung und dem Vereinsrecht erforderliche  $\frac{3}{4}$ -Mehrheit zur Satzungsänderung erreicht und die Satzungsänderung ist rechtswirksam.

Wir bitten diesen Fehler im Protokoll zu entschuldigen.

## Kundenzufriedenheitsumfrage 2015 des Referenzinstituts für Bioanalytik



In der Zeit vom 15. Mai bis 30. Juni 2015 wurden die Kunden des Referenzinstituts für Bioanalytik (RfB) nach ihrer Meinung gefragt. Das RfB bedankt sich bei allen 569 Teilnehmern, von denen 203 ihre Antworten anonym abgegeben haben, für ihre Einschätzung der Leistung des RfB.

Die Antworten umfassten zahlreiche positive Kommentare, es wurde aber auch die Gelegenheit genutzt, auf das ein oder andere Problem hinzuweisen. Soweit eine solche Rückmeldung nicht anonym abgegeben wurde, haben die Mitarbeiter des RfB die entsprechenden Teilnehmer dazu bereits kontaktiert.

Die Umfrage enthielt im Wesentlichen dieselben Fragen wie die letzte Zufriedenheitsumfrage im Jahr 2009. Daher konnten die Ergebnisse von damals und heute unmittelbar verglichen werden. Die zu den jeweiligen Begriffen erhaltenen Ergebnisse werden in den Graphiken als Durchschnittsnoten dargestellt, wobei 1=sehr gut, 2=gut, usw. und 6=ungenügend ist.

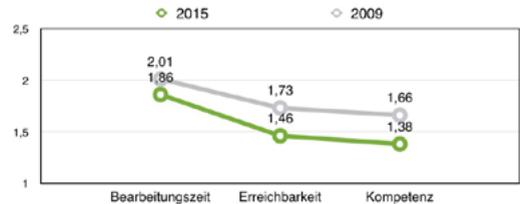
Als erste Konsequenz auf die Ergebnisse der Umfrage wurde auf der RfB-Webseite unter dem Menu „Support“ einen FAQ-Bereich eingerichtet, in dem anonyme Anfragen beantwortet werden. Diese Sammlung wird in

Zukunft weitergeführt, um häufig gestellte Fragen übersichtlich und kundenfreundlich zu beantworten.

### Bereich Web und Gesamtzufriedenheit



### Bearbeitungszeit, Erreichbarkeit und Kompetenz



### Infogehalt/Gestaltung der Auswertungen und Programmheft



Die Frage nach der Notwendigkeit einer Präsenz des RfB bei Twitter/Facebook beantworteten fast alle Teilnehmer abschlägig (98,1%), so dass dieses derzeit nicht weiter verfolgt wird.

Gut 70% der Umfrage-Teilnehmer sind schon länger als 6 Jahre Teilnehmer bei Ringversuchen des RfB und konnten somit auch die Frage nach der Entwicklung der Ringversuchsorganisation in den letzten Jahren beantworten. Über die hier erhaltene erfreuliche Durchschnittsnote von 1,57 freut sich das RfB-Team ebenso wie über die Tatsache, dass von 520 Teilnehmern, die diese Frage beantwortet haben, uns 517, d. h. 99,4 %, weiterempfehlen würden.

Insgesamt hat sich das RfB aus der Sicht der Kunden in allen Bereichen verbessert. Insbesondere die positive Einschätzung des Webauftritts, auf den in den vergangenen 3 Jahren in der Tat besonderes Augenmerk gelegt wurde, ist hervorzuheben.

Es gab zahlreiche Anregungen, welche neuen Parameter in Zukunft durch Ringversuche abgedeckt werden sollten - einige der genannten sind bereits ins Ringversuchsprogramm 2016 aufgenommen. Und - auch unter Berücksichtigung, welche Analyte mehrfach genannt wurden und ob eine technische Realisierung mit vertretbarem Aufwand zu bewerkstelligen ist - wird das RfB sein Angebot in Zukunft weiter ausbauen.

Somit war auch diese Zufriedenheitsumfrage wieder ein wertvolles Instrument für das RfB, um die Meinung der Kunden zu sammeln. Aber natürlich nimmt es darüber hinaus gerne jederzeit die Rückmeldungen von Teilnehmern entgegen.

VERFASSER:

---

Dr. Wolf-Jochen Geilenkeuser  
Referenzinstitut für Bioanalytik, Bonn

## RfB-Ringversuchsheft 2016 mit RiliBÄK-konformer Struktur und neuen Ringversuchen

Ab 2016 bietet das Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) das gesamte Sortiment der nach der Richtlinie zur Qualitätssicherung für labormedizinische Untersuchungen geforderten Ringversuche an. In Anlehnung an diese Richtlinie der Bundesärztekammer ist das Programmheft 2016 neu strukturiert, um die Übersicht über das umfangreiche Angebot zu erleichtern.

Das Spektrum spannt sich von „Quantitative Untersuchungen (B1)“, „Qualitative Untersuchungen (B2)“ und „Direkter Nachweis von Infektionserregern (B3)“ über „Ejakulat-Untersuchungen (B4)“ bis „Molekular- und zytogenetische Untersuchungen (B5)“.

In diese Kapitel entsprechend eingegliedert sind circa 150 weitere Analyte, die nach der Richtlinie zwar nicht ringversuchspflichtig sind, jedoch in zahlreichen Ringversuchen angeboten werden und die Laboratorien in der Sicherung ihrer Qualität unterstützen.

Folgende Ringversuche sind neu im Programm:

- **BAK TK:** Mit Hilfe verschiedener Sets bietet das RfB ab 2016 zweimal jährlich einen Ringversuch zum Nachweis von Bakterien in Thrombozytenkonzentraten an. Untersuchungsziele sind

die Nachweise mit Schnellmethoden, Kulturmethoden sowie Keimdifferenzierung.

- **EG:** Der Ringversuch für Ethylglucuronid wird zweimal im Jahr angeboten.
- **OS:** Die Analyte Osteocalcin, knochen-spezifische alkalische Phosphatase (BAP), CTx (CrossLaps) und P1NP umfasst dieser zweimal jährlich stattfindende Ringversuch.
- **SV:** Als Einstieg in die Qualitätskontrolle in der Speicheldiagnostik werden zweimal im Jahr Ringversuche für Cortisol und 17-OH-Progesteron im Speichel angeboten.



### Ringversuche 2016

Referenzinstitut für Bioanalytik  
Akkreditiert nach DIN EN ISO/IEC 17043



Qualitätssicherung im  
medizinischen Labor

Friedrich-Strasse 153, 53175 Bonn  
Telefon: 0228 398995-0 - Telefax: 0228 398995-23  
Internet: www.rfb.bio - E-Mail: [info@rfb.bio](mailto:info@rfb.bio)

ab sofort erhältlich!

Wie die bereits etablierten Ringversuche werden auch diese neuen Angebote von wissenschaftlichen Beratern mit ihrer Expertise begleitet und kommentiert.

Das Angebot des RfB soll weiterhin stetig erweitert werden. Diese Erweiterungen richten sich nach dem aktuellen Bedarf an Qualitätssicherung. Als wichtige Informationsquellen dienen dem RfB hierbei Teilnehmerbefragungen oder auch Mitteilungen von Kunden über die Service-Adresse [info@dgkl-rfb.de](mailto:info@dgkl-rfb.de).

Jeder aktuelle Teilnehmer hat in den letzten Tagen das neue Programm 2016 bereits erhalten. Für alle Interessenten steht das Programm auf der Webseite des RfB zum Download bereit, welches auf Anfrage auch gerne in gedruckter Form zugesendet wird. Das RfB-Team freut sich auf die Zusammenarbeit.

VERFASSER:

---

Dr. Anja Kessler  
Referenzinstitut für Bioanalytik, Bonn

## 5. Workshop der Sektion Endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik der DGKL

Am 24. April 2015 traf sich die Sektion Endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik (SELD) zur Diskussion von neuen analytischen Methoden und deren Relevanz in der klinischen Endokrinologie im Maritim Hotel am Schlossgarten in Fulda. Thematisch war die Veranstaltung zweigeteilt: Vormittags wurde der Stand der Anwendung von massenspektrometrischen Methoden (LC-MS/MS) im endokrinologischen Labor dargestellt und kritisch hinterfragt. Im zweiten Teil lieferten Spezialisten in Übersichtsvorträgen kurze Updates zu verschiedenen klinisch-relevanten endokrinologischen Biomarkern in Bezug auf deren Analytik bzw. diagnostische und klinische Relevanz.

Prof. Dr. Michael Vogeser aus München eröffnete den Vormittag mit einem Beitrag zum Thema „Welche Probleme löst MS, welche (eventuell neuen) gibt es?“. Er wies darauf hin, dass massenspektrometrische Technologien wesentliche Grundcharakteristika aufweisen, die eine deutlich höhere analytische Zuverlässigkeit ermöglichen können, als dies für immunometrische Messverfahren gilt. Dies ist zum einen die hochspezifische Analytdetektion, die bei der MS/MS-Technologie nicht nur die Molekülmasse von Zielanalyten inkorporiert, sondern auch das molekulare Desintegrationsverhalten. Zum



anderen erlaubt die Verwendung stabilisotopen-markierter interner Standards als Alleinstellungsmerkmal der Massenspektrometrie die weitgehende Kompensation von proben-individuellen Matrixeffekten. Es ist jedoch wesentlich in der klinisch-diagnostischen Anwendung der LC-MS/MS-Technik zu berücksichtigen, dass trotz dieser einzigartigen technologischen Grundfeatures eine Reihe von Fehlerquellen dazu führen kann, dass unrichtige Resultate generiert werden. Die LC-MS/MS erlaubt die Entwicklung sehr zuverlässiger Tests, garantiert aber nicht deren Validität. Wichtige Fehlerquellen sind unter anderem die Desintegration von Konjugaten der Zielanalyten bei der Ionisation (in-source transformation), differentielle Isotopie-Effekte bei Ionisation und Fragmentation, Interferenzen durch Isobare und Isomere des Zielanalyten oder

Deuterium-Wasserstoff-Rückaustausch bei internen Standards.

Da gegenwärtig noch kaum automatisierte Verfahren in der Probenvorbereitung zum Einsatz kommen, sind MS-Verfahren anfällig für Handhabungsfehler, wie Vertauschungen im Probengeber. Qualitätsbestimmend ist ferner z.B. die Peakintegration bei komplexen Chromatogrammen, aber auch die Reinheit der eingesetzten Kalibrationsmaterialien. Inwieweit die klinisch-diagnostische Anwendung der LC-MS/MS Qualitätssicherungsmaßnahmen erfordert, die über die für Standardtechniken in der Labormedizin verwendeten hinausgehen, kann noch nicht sicher beurteilt werden.

Darauf konnte Dr. Matthias Weber aus Karlsruhe seine Erfahrungen in der Anwendung der LC-MS/MS Technologie für die Bestimmung eines Panels an Steroiden in der Routinediagnostik darlegen. Am Beispiel eigener Daten zur Cortisol-Bestimmung zeigte er Probleme der Leistungsfähigkeit von verschiedenen Immunoassays (Cobas, Architect, Modular, DPC RIA) sowohl im Vergleich untereinander als auch im Vergleich zur LC-MS/MS. Dies war Anlass, die Bestimmung von Cortisol, Androstendion und 17-Hydroxy-Progesteron als LC-MS/MS-Methode mit automatisierter Probenvorbereitung und online-SPE zu etablieren. Als zusätzliche Analyte wurden noch 11-Deoxycortisol, 21-Deoxycortisol und Corticosteron

in das Panel aufgenommen. Die Validierungsdaten ergaben eine gute Performance und eine gute Vergleichbarkeit mit anderen LC-MS/MS Methoden. Die Analyse des gesamten Panels ermöglicht in entsprechenden Fällen eine bessere differentialdiagnostische Bewertung pathologischer Befunde in einem Schritt. Weiterhin fanden sich bei unauffällig gemessenen Routineparametern (z.B. Androstendion) in 7 bis 20 % pathologische Abweichungen anderer Parameter des Panels, was differentialdiagnostisch hilfreich sein kann. Als problematisch in der Steroidanalytik wurde die hohe Zahl an potentiellen isobaren Interferenzen dargestellt, die entsprechend hohe Anforderungen an die chromatografische Trennung stellen.

Die Anpassung der LC-MS/MS an die speziellen Erfordernisse der Steroidanalytik in der Pädiatrie wurden von Prof. Dr. Manfred Rauh aus dem Universitätsklinikum Erlangen beschrieben. Am Beispiel des Adrenogenitalen Syndroms wurden die Vorteile der LC-MS/MS gegenüber den herkömmlichen Immunoassays deutlich. Steroidprofile in Plasma, Trockenblut, Urin, Speichel und Gewebeproben erlauben wichtige Rückschlüsse auf Enzymaktivitäten für die Diagnostik und Therapiesteuerung. Die Vitamin-D-Bestimmung mit LC-MS/MS bei Kindern zeigt die Bedeutung einer suffizienten Chromatographie für die Abtrennung von Isobaren und Isomeren. Durch Einführung der Massenspektrometrie konnte eine wesentliche Verbesserung der

Spezifität der verwendeten Steroidassays in der Anwendung bei Kindern und Jugendlichen erreicht werden.

PD Dr. Christoph Seger aus Innsbruck berichtete in seinem Vortrag „Steroid-Analytik in der klinischen Routine – die Bedeutung von Referenzmethode und Rückführbarkeit“ über den metrologischen Überbau, der es ermöglichen soll, nicht nur genaue, sondern auch richtige Messungen zu gewährleisten – selbst wenn unterschiedlichste Messmethoden im Routine-Labor angewendet werden. Er fokussierte seine Ausführungen auf Testosteron und Östradiol und führte in den Stand der Technik ein. Speziell im niedrigen Messbereich gibt es bei immunologischen Messmethoden weiterhin starke Abweichungen der Messergebnisse von den Referenzmethoden (Methoden-Bias), die klinische Entscheidungsfindungen erschweren. PD Dr. Seger stellte ein internationales Projekt („CDC hormone standardization project = CDC-HOST project“) zur Beseitigung dieses Bias vor, erläuterte die Rolle der LC-MS/MS im Rahmen dieses Projektes und schloss seinen Vortrag mit Ausführungen zur Umsetzung metrologischer Rückführbarkeit bei der Etablierung von LC-MS/MS Test-Eigenentwicklungen.

Der Themenkomplex Massenspektrometrie wurde durch einen Vortrag über potentielle Konsequenzen der Umstellung auf LC-MS/MS für die Klinik abgeschlossen. Hierzu zeigte Prof. Dr. Georg Brabant vom

Universitätsklinikum Lübeck anhand verschiedener Beispiele aus der Praxis der klinischen Endokrinologie, wie eine höhere analytische Spezifität durch die Anwendung von LC-MS/MS mit einer besseren diagnostischen Spezifität einhergehen kann.

Den zweiten Teil des Workshops eröffnete Dr. Martin Bidlingmaier aus München mit seinem Update zu den Parametern Wachstumshormon (GH)/Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) und dessen Bindungsprotein 3 (IGFBP 3). Er ging dabei auf den aktuellen Stand der Vergleichbarkeitsuntersuchungen für Assays in der Labordiagnostik von wachstumshormonassoziierten Erkrankungen ein. Beim GH zeigte sich in den vergangenen Jahren eindeutig ein positiver Effekt der von Fachgesellschaften seit langem geforderten und nun von fast allen Assayherstellern durchgeführten einheitlichen Standardisierung mit dem rekombinanten Standard 98/574. In den Ringversuchen des RfB konnte zwischen 2011 und 2015 eine deutliche Reduktion der Streuung der Messergebnisse beobachtet werden. Leider ist eine analoge einheitliche Standardisierung beim IGF-I noch nicht von allen Anbietern durchgeführt worden. Die Messergebnisse der Methoden, die immer noch den alten Kalibratoren verwenden, liegen deutlich höher als die von denen mit dem aktuellen rekombinanten Standard 02/274. Dies ist auch in den Ringversuchen erkennbar. Im zweiten Teil seines Vortrags erläuterte

der Referent, wie sich die Änderungen in der Kalibration und weitere Unterschiede zwischen den Assays auf die Interpretation der gemessenen Werte auswirken. So müssen beim GH die in klinischen Guidelines typischerweise genannten „cut-off-Werte“ für Stimulations- und Suppressionsteste unbedingt an die in modernen Assays niedriger ausfallenden Messwerte angepasst werden. Hier gibt es erste Ansätze mit Hilfe aufwändiger IDMS-Verfahren eine methodenunabhängige Rückführbarkeit herzustellen. Beim IGF-I sind aufgrund der massiven Unterschiede der Messwerte verschiedener Assays methodenspezifische Referenzbereiche zur Interpretation anzuwenden. Anhand einer kürzlich publizierten multizentrischen Studie zu Referenzintervallen für IGF-I und IGFBP-3 (Bidlingmaier et al. und Friedrich et al., beide J Clin Endocrinol Metab. Mai 2014) zeigte Dr. Bidlingmaier, dass solche Referenzbereiche aufgrund der starken Altersabhängigkeit der IGF-I-Werte an großen Kollektiven erstellt werden müssen.

Den anschließenden Vortrag lieferte Dr. Jürgen Kratzsch aus Leipzig zur Diagnostik und zum Follow Up des medullären Schilddrüsenkarzinoms (MTC). Er wies darauf hin, dass bei der Bestimmung des Calcitonins als wichtigstem Tumormarker für diese Erkrankung wegen der weitreichenden klinischen Konsequenzen von erhöht-gemessenen Werten nur gut klinisch-evaluierten Assaymethoden angewendet werden sollen. In eigenen

Daten konnte gezeigt werden, dass benigne Erkrankungen der Schilddrüse und Erkrankungen der Calciumhomöostase in Einzelfällen erhöhte Calcitoninwerte liefern, welche oft nach 6 bis 12 Monaten wieder im Referenzbereich gefunden werden. Außerdem wurde nachgewiesen, dass es bei der Erstellung von Referenzbereichen für Calcitonin durch den Einschluss von Patienten mit SD-Knoten zu keiner Verschiebung des Wertebereichs kommt. Des Weiteren ist die genaue Kenntnis der Patientenanamnese für das Labor von Wichtigkeit: Bei erstdiagnostizierten Hypercalcitonämien mit Konzentrationen über 100 pg/mL sollte entweder nach einem plausiblen klinischen Korrelat für ein MTC gesucht werden oder die Probe muss, z.B. in einer Verdünnungsreihe, auf die Anwesenheit von heterophilen Antikörpern untersucht werden. Letztere können letztendlich für eine falsch-positive Erhöhung des Calcitonins verantwortlich sein. Darüber hinaus wurde ausgeführt, dass Calcium-Stimulationssteste zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine geeignete funktionsdiagnostische Alternative für das nicht mehr verfügbare Stimulanz Pentagastrin zur Diagnostik des MTCs sind. Die bisher in Studien ermittelten cut-points liefern leider aufgrund ihrer hohen Variabilität keine Möglichkeit für die Festlegung auf einen Konsens cut-off-Wert. Abschließend erwähnte Dr. Kratzsch, dass Procalcitonin (PCT) sich als interessante und fast gleichwertige Alternative zum Calcitonin in der Diagnostik des

MTC herausgestellt hat. Besonders bei unklarer MTC-Diagnostik liefert PCT wertvolle Zusatzinformationen, allerdings müssen parallele klinische bzw. subklinische Infektionen, die ebenfalls zur PCT-Erhöhung führen können, dabei ausgeschlossen werden.

In einem Übersichtsvortrag erläuterte anschließend Dr. Roman Pavlik aus München neue Aspekte zur Anwendung von AMH-Assays in der Fertilitätsdiagnostik.

Abschließend schloss Prof. Dr. Hans-Jürgen Glander aus Leipzig den Komplex Proteohormone mit einem Vortrag zur Bedeutung von Inhibin B-Messungen in der männlichen Fertilitätsdiagnostik ab. Er wies darauf hin, dass die Funktionen von Inhibin B bezüglich einer kompetenten Spermatogenese gegenwärtig auf Grund von Studien mit relativ kleinen Zahlen von infertilen Männern noch umstritten sind. Dieser Fakt empfahl die Untersuchung einer größeren Probandenzahl durch die Leipziger Gruppe. In einem Zeitraum von sieben Jahren untersuchte man die Inhibin B-Konzentration von 2448 Männern hinsichtlich der Spermaqualität bzw. der erfolgreichen Spermengewinnung aus Hodengewebe für eine evtl. intracytoplasmatische Spermieninjektion in die Eizelle (ICSI). Es ergaben sich dabei folgende Schlussfolgerungen: (1) Inhibin B und insbesondere das Inhibin B/FSH-Verhältnis waren sensitivere Marker der männlichen Infertilität als FSH allein. (2) Inhibin B war in Kombination mit FSH z.Zt. der beste Prädiktor für die Spermaqualität und

die Erfolgsrate der Spermengewinnung aus Hodengewebe. Spermien wurden im Hodengewebe nie bei Serum-Inhibin B-Konzentrationen unter 20 ng/L gefunden. (3) In der Gruppe von Männern mit normalem Routine-Spermiogramm konnten Referenzwerte (Medianwert; 10. und 90. Perzentile) für Inhibin B mit 130,5 (54,5 – 247) ng/L und für das Inhibin B/FSH-Verhältnis mit 38,3 (12,5 – 104,8) berechnet werden. Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass Inhibin B ein wichtiger mit der Spermienreifung assoziierter Biomarker ist.

Der Vorsitzende der Sektion Endokrinologische Labordiagnostik, Dr. Martin Bidlingmaier, beendete den Workshop mit einem kurzen Resümee zur Einordnung der präsentierten Ergebnisse sowie mit der Einladung zum nächsten Workshop, der am 22.4.2016 in Berlin stattfinden wird.

### VERFASSER:

Prof. Dr. Jürgen Kratzsch

Universitätsklinikum Leipzig AöR, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klin.Chemie u. Molekulare Diagnostik, Liebigstraße 27, 04103 Leipzig, e-Mail: Kraj@medizin.uni-leipzig.de

Dr. Martin Bidlingmaier

Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Klinikum der Universität München, Ziemssenstraße 1, 80336 München, e-Mail: Martin.Bidlingmaier@med.uni-muenchen.de

## Molekulare labormedizinische Diagnostik im peripheren Blut und in Körperflüssigkeiten

Michael Neumaier Stefan Holdenrieder

Die Diagnostik aus Blut und Körperflüssigkeiten ist Aufgabe der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin und umfasst Biomarker unterschiedlicher Molekülklassen, Organprovenienz sowie Prozessierungs- und Stoffwechselprodukte.

Das zirkulierende Blut hat Kontakt zu praktisch allen Organen und transportiert deren Gen- und Stoffwechselprodukte ebenso wie Moleküle der Kategorie „Tissue Leakage Marker“, welche im Zusammenhang mit Zellschädigung oder –untergang nachgewiesen werden können. Die klassische Analytik klinisch-biochemischer Stoffwechselfolgen hat sich mit der Ankunft des molekularen Zeitalters der Medizin um eine völlig neue Dimension erweitert. Molekulargenetische Diagnostik aus der DNA zirkulierender kernhaltiger Blutzellen gehört heute zur diagnostischen Standardkompetenz in der Laboratoriumsmedizin für die Identifikation von Risikoallelen insbesondere bei multifaktoriellen Erkrankungen. Prominente Beispiele sind Thrombose- und Blutungsrisiken, pharmakogenetische Untersuchungen bei Arzneimittelnebenwirkungen oder bei Therapieresistenz, biochemisch gut fassbare Stoffwechselstörungen wie die Hämochromatose u.a. Gemeinsam ist ihnen, dass die molekulargenetischen Untersuchungsergebnisse in

ausgezeichneter Weise die traditionellen Stärken in der phänotypischen Diagnostik in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin unterstützen und komplementieren können.

Gerade bei multifaktoriellen Erkrankungen mit komplexem molekularem Hintergrund ist die phänotypische Klassifizierung wegweisend. Für die Bearbeitung komplexer medizinischer Fragen muss sich das Fach daher zunehmend den Herausforderungen stellen, Verbindungen des klassischen Phänotyps mit dem zugrunde liegenden genotypischen und epigenetischen Hintergrund zu ziehen. Dabei ergeben sich gleichzeitig interdisziplinäre Dialoge zu komplementären Aufgaben der Pathologie als Gewebediagnostik sowie der Humangenetik im Zusammenhang mit erblichen Erkrankungen und genetischer Beratung.

### IM BLUT ZIRKULIERENDE ZELL-FREIE NUKLEINSÄUREN

Neben der genannten molekularen Diagnostik zur Erfassung genetischer Risikofaktoren ermöglichen sensitive Nachweismethoden zunehmend die Erfassung im Blut zirkulierender Tumorzellen (CTCs) sowie die Analyse frei im Blut zirkulierender DNA (cfDNA) oder subzellulärer Kompartimente (Exosomen, Microparticles). Diese neuen Quellen

für Nukleinsäure-basierte Diagnostik werden in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin in Zukunft an Bedeutung gewinnen (Schwarzenbach 2011).

Der empfindliche Nachweis von cfDNA ist seit langem bekannt. In verschiedenen Krankheitszuständen – sowie in geringem Maße auch bei Gesunden – lässt sich die Anwesenheit zell-freier zirkulierender Nukleinsäuren im Plasma und Serum (CNAPS) nachweisen. Erhöhte cfDNA Konzentrationen finden sich im Blut nach starker körperlicher Anstrengung, bei akuten Erkrankungen wie Sepsis, Trauma, Myokardinfarkt, Schlaganfall, nach Transplantationen, bei denen die Donor-DNA spezifisch nachweisbar wird, sowie bei verschiedenen Tumorarten, wobei diese nach erfolgreicher Tumorthherapie wieder abfielen (reviewed in Fleischhacker 2007, Holdenrieder 2014). Wenngleich cfDNA bei diversen Erkrankungen eine diagnostische Bedeutung zu haben scheint, ist die rein quantitative Betrachtung der Konzentration für den gezielten diagnostischen Einsatz limitiert.

#### ERKRANKUNGS-SPEZIFISCHE VERÄNDERUNGEN

Mit zunehmendem pathobiochemischen Verständnis um Krankheitszusammenhänge hat sich in den letzten Jahren der Blick hin zu Erkrankungsspezifischen molekularen Veränderungen erweitert. Von steigendem Interesse sind genetische Veränderungen von Einzelmutationen über den Verlust oder Zugewinn von Genabschnitten (z.B. bei Verlust der Heterozygotität (LOH) oder

Mi-krosatelliteninstabilität (MSI)) bis hin zu numerischen Chromosomenaberrationen. Hinzu kommen prinzipiell reversible Veränderungen auf epigenetischer Ebene (z.B. Veränderung des DNA-Methylierungsmusters an Promotorregionen oder diverse Histon-Modifikationen), die eine große Rolle in der Regulation der Transkription spielen. Ebenfalls regulierend auf der Ebene der Transkription sind die nicht-kodierende microRNAs oder long-non-coding RNAs (lncRNA). Schließlich sind Genexpressions-Profile (mRNA) in verschiedenen Blutzellen und Kompartimenten aufschlussreich für die Entwicklung von Erkrankungszuständen (reviewed in Fleischhacker 2007, Schwarzenbach 2011, Crowley 2013, Holdenrieder 2014). Diese neuen diagnostischen Ansatzpunkte befinden sich derzeit zum Teil noch im Forschungs- bzw. Validierungsstadium, werden aber absehbar die aktuelle Diagnostik in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin ergänzen und bereichern.

Mit den rasanten Fortschritten in den Techniken der massiven parallelen DNA-Sequenzierung (next generation sequencing; NGS) ist seit einigen Jahren eine in die Tiefe gehende Charakterisierung von cfDNA bis hinunter in die Einzelbase möglich geworden. Wesentliche Anwendungen liegen dabei einerseits auf den Gebieten der Humangenetik, wenn es z.B. um die Charakterisierung fetaler DNA im mütterlichen Kreislauf geht. Zum anderen wird blut-basierte Charakterisierung molekularer Defekte bei malignen Erkrankungen die molekularpathologische

Analyse des Tumors ergänzen. Beide Anwendungen sind hinsichtlich der analytischen Herausforderungen sehr verwandt, handelt es sich doch um Genomäquivalente, die sich vom Genom des „Wirtes“ unterscheiden lassen und in Abhängigkeit von Stadium bzw. der Schwangerschaftswoche in steigenden Konzentrationen im Blut nachweisbar werden. Wesentliche Impulse wurden auch hier von der Gruppe um Dennis Lo gesetzt (Chiu 2011). Inzwischen ist gezeigt, dass sich das gesamte fetale Genom aus dem Blut der Schwangeren sequenzieren lässt (Kitzman 2012). Erkenntnisse dieser Art werden z.B. für die Beratungsmöglichkeiten durch die Humangenetik absehbar erhebliche Bedeutung erlangen und sich für die gesamte Medizin zur Herausforderung entwickeln.

Die Labordiagnostik maligner Erkrankungen ist eine zentrale und umfangreiche Aufgabe der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin in der Krankenversorgung, liegt doch die Zahl der Todesfälle durch Tumorerkrankungen in unserer Gesellschaft in der Mortalitätsstatistik an zweiter Stelle hinter den Herz-Kreislaufkrankungen. Im Kontext mit Tumorerkrankungen treten zirkulierende Nukleinsäuren aus im Wesentlichen zwei Quellen auf: 1) zirkulierende Tumor-DNA (ctDNA), die aus Tumornekrose, -apoptose oder Sekretion der malignen Zelle stammt oder 2) zirkulierender Tumorzellen (CTC), die sich im Rahmen einer Mikrometastasierung in der Zirkulation befinden bzw. deren Nukleinsäuren (Fleischhacker 2007, Schwarzenbach 2011).

Die rasch zunehmenden Kenntnisse in der Pathobiochemie des malignen Wachstums, die Identifikation tumorassoziierter bzw. -spezifischer molekularer Defekte und sog. „druggable Targets“ sowie die Entwicklung Pathway-spezifischer Medikamente wird diese neue Labordiagnostik wichtige Informationen für Verlaufsbeurteilungen und Therapieentscheidungen beitragen. Waren die klassischen Serum-Tumormarker, mit denen sich die Laboratoriumsmedizin an der Diagnostik maligner Erkrankungen beteiligt hatte, in frühen Tumorstadien häufig durch niedrige Sensitivitäten und Spezifitäten gehandicapped, so lässt sich für die künftig verfügbaren Verfahren der molekularen CNAPS-Diagnostik aufgrund der erheblichen Steigerungen von Spezifität und Sensitivität am ehesten der Begriff „Tumormarker reloaded“ verwenden.

Vier wesentliche diagnostische Anwendungen der Analyse zirkulierender Tumor-DNA (ctDNA) lassen sich für eine moderne Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin definieren: 1) Charakterisierung einzelner oder komplexer genetischer und epigenetischer Veränderungen im Sinne von Mutations- oder Expressionsprofilen zur Therapiestratifizierung, 2) Verlaufskontrolle molekularer Veränderungen unter Therapie zum Monitoring der Therapiewirksamkeit, 3) Detektion und Charakterisierung molekularer Resistenz unter Therapie, 4) hochsensitiver Nachweis tumor-basierter Nukleinsäuren zur Detektion minimaler Resterkrankung bzw. eines noch präklinischen Progresses.

### „LIQUID PROFILING“

Zunächst in verschiedenen Zusammenhängen geprägt, steht der Begriff „Liquid Biopsy“ in der einschlägigen Literatur derzeit für die Untersuchung von cfDNA oder CTCs in Zusammenhang mit der Charakterisierung von Tumoreigenschaften (Diaz 2014). In unseren Augen wird diese Begrifflichkeit der diagnostischen Bedeutung der Biopsie nicht gerecht. Während die Gewebebiopsie dem Pathologen wichtige Aufschlüsse über komplexe Zusammenhänge geben kann – zu den Klassifikationskriterien zählen Tumornekrose, Hypoxiezeichen, Vaskularisierung und Gefäßstatus des Tumorbetts, Stromareaktion des Normalgewebes, Infiltration des Tumors durch Zellen des innatens und kognaten Immunsystems sowie schließlich wichtige phänotypische Differenzierungsmerkmale der Tumorzellen und ihrer Heterogenität – gibt die sog. „Liquid Biopsy“ ausschließlich über molekulare Eigenschaften des Tumors selber Auskunft.

Andererseits wird der Nachweis von Tumoreigenschaften im Blut oder Körperflüssigkeiten seit vielen Jahren von der Labormedizin diagnostisch angewandt. Die Unterscheidung von Tumor- und Normalgewebe bzw. die Charakterisierung des prognostisch relevanten Profils einer Tumorerkrankung lassen sich schließlich auf allen Ebenen diagnostisch verfügbarer Biomoleküle vornehmen. Eine multiparametrische Bewertung von Tumoreigenschaften wird am ehesten durch den Begriff „Liquid Profiling“ erfasst. Dies dient auch der Klärung, dass die Untersuchungen nicht in bioptisch entnommenem Gewebe, sondern

in Blut oder Körperflüssigkeiten durchgeführt werden, und es um die diagnostisch oder therapeutisch relevante Erfassung eines Krankheits-definierenden Markerprofils geht.

„Liquid Profiling“ ist somit in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin verankert und erfährt durch die diagnostische Nutzung von cfDNA und CTCs eine begrüßenswerte Renaissance und Erweiterung.

### COMPANION-DIAGNOSTIK ZUR THERAPIESTRATIFIZIERUNG BEI TUMORERKRANKUNGEN

Besondere Bedeutung hat die molekular-diagnostische Charakterisierung von Tumorerkrankungen dadurch erlangt, dass neue biologische Therapien (sog. „Targeted Therapies“) gezielt auf Komponenten von Wachstums-Signalwegen einwirken, die bei Tumorzellen z.B. durch spezifische Mutationen dereguliert sind. Allerdings sind die Therapien nur wirksam, wenn die spezifischen molekularen Veränderungen vorliegen, so dass der Nachweis der sog. „Treibermutationen“ im Tumorgewebe Voraussetzung für die Therapiegabe ist (Crowley 2013, Duffy 2013).

Beispiele für den Einsatz dieser Companion-Diagnostik sind der Nachweis von aktivierenden Mutationen (L858R oder Exon-19 Deletion) des epithelial growth factor receptor (EGFR) als Bedingung für die Gabe der EGFR-inhibierenden Tyrosinkinase-Gefitinib und Erlotinib beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC), der Nachweis der aktivierenden BRAF-Mutation V600E für die Gabe der BRAF-Inhibitoren Vemurafenib und

Dabrafenib beim malignen Melanom sowie das Nicht-Vorhandensein der Downstream-Mutationen KRAS und NRAS als Voraussetzung für die Gabe der EGFR-Antikörper Cetuximab und Panitumumab beim kolorektalen Karzinom (reviewed in Crowley 2013, Duffy 2013).

Wenngleich der Einsatz der Companion-Diagnostik die Ansprechraten bei den hierfür qualifizierten Patientengruppen erhöht hat, besteht weiterer Verbesserungsbedarf. So sprechen beim NSCLC nur 70% der Patienten in der Erstlinien- und 50% in der Zweitlinientherapie auf Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) an. Hinzu kommen zahlreiche Rezidive und sekundäre Progressionen, die z.T. auf zusätzliche Resistenzmutationen wie die EGFR T790M Mutation oder das – wiederum durch Crizotinib therapierbare – ALK-EML-Fusionsgen hervorgerufen werden (reviewed in Crowley 2013, Holdenrieder 2014).

Eine Ursache für das Nicht-Ansprechen trotz des Vorliegens qualifizierender Mutationen ist die oft anzutreffende molekulare Heterogenität innerhalb eines Tumors, zwischen Primärtumor und Metastasen sowie die zeitliche und räumliche Plastizität der Tumore (Gerlinger 2012). Im Blut findet sich die Summe der molekularen Marker aus verschiedenen Tumormanifestationen; zudem können durch die geringe Invasivität der seriell durchführbaren, Blut-basierten Diagnostik die molekularen Veränderungen über die Zeit verfolgt werden und für das Therapiemonitoring, die frühzeitige Rezidivdiagnostik und

molekulare Charakterisierung der Resistenzen verwendet werden (Diaz 2014).

#### HOCHDURCHSATZTECHNOLOGIEN IN DER MOLEKULAREN DIAGNOSTIK

Erst mit Entwicklung hochparallel amplifizierender Technologien wurde die ultrasensitive Detektion von tumor-spezifischen Nukleinsäuren möglich, die heute eine Auflösung von einem aus mehr als 10.000 DNA-Molekülen erreicht (Diaz 2014). Die am weitesten verbreiteten Verfahren stellen digitale oder klonale Amplifikationsmethoden dar, die mittels Emulsions-PCR oder Clusterbildung hochspezifisch einzelne DNA-Moleküle so stark vermehren, dass sie mittels FACS-, massenspektrometrische Analyse oder hochparallele Sequenzierung ausgelesen werden können (Diehl 2008, Crowley 2013, Holdenrieder 2014). Zahlreiche aktuelle klinische Studien basieren auf der sog. BEAMing-Methode (Beads, Emulsion, Amplification and Magnetics), die eine Digital Droplet-Emulsions-PCR mit einer durchflusszytometrischen Detektion kombiniert (Diehl 2008). Daneben spielen klassische Next Generation Sequencing (NGS)-Ansätze eine wichtige Rolle (z.B. Illumina, Ion Torrent etc.), bei denen einzelne oder multiple Genabschnitte direkt sequenziert werden. NGS hat inzwischen breiten Einzug in die Humangenetik, Pathologie, Mikrobiologie und eben in die Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin gefunden. Es sei erwähnt, dass Jonathan Rothberg für seine Pionierleistung auf dem Gebiet der NGS bereits 2011 mit dem Preis für biochemische

Analytik der DGKL ausgezeichnet wurde.

In einer umfassenden Studie mit 640 Patienten mit diversen Tumorerkrankungen wurde gezeigt, dass tumor-spezifische Mutationen auf cfDNA in 82% der Patienten mit fortgeschrittenen Tumoren (ohne Hirntumore) und in 55% mit lokalisierten Tumorstadien vorhanden waren. Bedeutsam ist, dass cfDNA im Plasma der überwiegenden Zahl von Tumorpatienten nachgewiesen werden, die für eine Companion-Diagnostik in Frage kommen (Bettegowda 2014). Hingegen finden sich CTCs v.a. im Blut von Patienten mit einer metastasierten Tumorerkrankung und sind mit einer ungünstigen Prognose beim Mamma-, Kolon- und Prostatakarzinom assoziiert (Alix-Panabières 2012). In einer aktuellen Studie schnitten bei einem Vergleich der KRAS-Mutationen in CTCs, cfDNA und Gewebe von 82 Patienten mit Lungenkarzinom die CTCs mit einer diagnostischen Sensitivität von nur 52% (bei 88% Spezifität) jedoch deutlich schlechter ab als cfDNA mit einer Sensitivität von 96% (bei 95% Spezifität) (Freidin 2015).

#### KLINISCHE STUDIEN ZU LIQUID PROFILING BEI TUMORERKRANKUNGEN

Liquid Profiling kann dann sinnvoll zur **Therapiestratifizierung** eingesetzt werden, wenn keine Biopsie möglich ist oder die Gewebeprobe keine aussagekräftigen Schlüsse zulässt. Allerdings wird als Voraussetzung für die in Frage kommenden Technologien eine hohe Konkordanz der Ergebnisse in cfDNA und dem Tumorgewebe gefordert. Diese hohe Übereinstimmung wurde für das

BEAMing-Verfahren in mehreren Studien nachgewiesen: Higgins et al wiesen in 34 retrospektiven und 51 prospektiven cfDNA Proben eine 100%ige Konkordanz mit den FFPE-Gewebeproben nach, wenn in beiden Materialien BEAMing durchgeführt wurde (Higgins 2012). Bettegowda et al verglich KRAS Mutationen in cfDNA und Tumorgewebe von 206 Patienten mit metastasiertem, kolorektalem Karzinom. Dabei wurde eine Sensitivität von 87% bei einer Spezifität von 99% ermittelt (Bettegowda 2014). Janku et al fanden für 21 Mutationen im BRAF, EGFR, KRAS und PIK3CA-Gen in Patienten mit fortgeschrittenen Karzinomen mittels BEAMing Übereinstimmungsraten von 91% für BRAF, 99% für EGFR, 83% für KRAS und 91% für PIK3CA Mutationen zwischen Standard-Gewebediagnostik und cfDNA. Hohe cfDNA Mutationsraten waren zudem mit einer ungünstigen Prognose assoziiert (Janku 2015). Diese Studien weisen eine hohe Konkordanz tumorspezifischer Mutationen in Plasma cfDNA und Tumorgewebe aus; darüber hinaus zeigen sie, dass auch diskrepante Befunde bedeutsam sind, insbesondere wenn cfDNA mit dem Therapieansprechen oder der Prognose assoziiert ist. Weitere Studien werden adressieren, inwiefern die cfDNA-Diagnostik das Therapieansprechen besser antizipieren kann, was angesichts der verbesserungswürdigen Ansprechraten bei einigen TKIs durchaus realistisch erscheint.

Im **Verlauf einer Tumorthherapie** korreliert die Menge der im Blut zirkulierenden mutierten DNA mit der Tumormasse, wie

Diehl et al am Beispiel der APC, TP53 und KRAS-Mutationen bei Patienten mit kolorektalem Karzinom zeigen konnten (Diehl 2008). Nach vollständiger chirurgischer Tumorentfernung fielen die Werte mit einer Halbwertszeit von etwa 2 Stunden bis auf weniger als 1% des Ausgangswerts nach 24 Stunden ab, während sie bei Vorliegen eines Resttumors auf höheren Wertlagen persistierten. cfDNA wies eine stärker Dynamik auf und hatte einen höheren prädiktiven Wert für die Erkennung eines Tumorrezidivs als der etablierte Tumormarker CEA (Diehl 2008). Ähnlich überzeugende Ergebnisse wurden für PIK3CA und TP53 beschrieben, die in cfDNA von 97% (29 von 30) der Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom nachgewiesen wurden, während die Sensitivitäten für CTCs und CA 15-3 nur bei 87% und 78% lagen. Auch war die Korrelation mit der Tumorlast und die akkurate Erkennung eines Rezidivs für die ctDNA mit 89% deutlich besser als für CTCs (37%) oder CA 15-3 (50%). In 53% der progredienten Patientinnen zeigte ctDNA als erster Marker und mit einer durchschnittlichen Lead Time von 5 Monaten bis zum bildgebenden Nachweis die unzureichende Therapiewirkung an (Dawson 2013). Diese Studien zeigen, dass cfDNA bei bekanntem Mutationsstatus äußerst sensitive „individuelle Tumormarker“ für das Monitoring des Krankheitsverlaufs während und nach einer Therapie sind.

Die **sensitive Detektion sekundär nachweisbarer Resistenzmutationen** wurde von Misale et al beschrieben. In 6 von 10

Patienten mit kolorektalem Karzinom und Resistenz gegenüber Cetuximab und Panitumumab wurden neue KRAS-Mutationen bis zu 4 Monate vor einem CEA-Anstieg und 9 Monate vor der radiologischen Rezidivdiagnostik gefunden (Misale 2013). Murtaza et al. verfolgten die genomischen Veränderungen in 6 Tumorpatienten durch hochparalleles Exomsequencing und identifizierten neue Resistenz-bedingende und aktivierende Mutationen wie EGFR T790M, PIK3CA und RB1 (Murtaza 2013). Siravegna et al. berichten von verschiedenen erworbenen Resistenz-Mutationen (u.a. KRAS, NRAS, MET, ERBB2, FLT3, EGFR und MAP2K1) in cfDNA während einer EGFR-inhibierenden Therapie. Bei Therapieunterbrechung sanken die mutierten KRAS-Spiegel wieder ab, so dass eine erneute Anti-EGFR-Therapie möglich war (Siravegna 2015). Diese Studien zeigen, dass neue Resistenzgene in cfDNA sehr sensitiv detektiert und charakterisiert werden können. Klinisch nutzbar wird dieses Wissen allerdings erst, wenn auch entsprechende „Targeted Therapies“ zur Verfügung stehen.

#### PRÄANALYTISCHE UND ANALYTISCHE QUALITÄTSSICHERUNG MOLEKULARER ANALYSEN

Für ein effizientes Liquid Profiling sind eine Reihe von Voraussetzungen zu erfüllen, die im klinischen Labor im Allgemeinen als gegeben betrachtet werden können. Diese beziehen sich auf die verfügbare Infrastruktur zur Bewältigung großer Probenmengen. Aufgrund der zu erwartenden Häufigkeiten von Untersuchungen (vgl. die Häufigkeiten

von (phänotypischen) Tumormarker-Bestimmungen in der Vergangenheit) sind effiziente Workflows sicherzustellen, um kurze Responsezeiten nicht zu gefährden.

Standardisierte präanalytische Verfahren, die in klinischen Laboratorien im Rahmen interner und externer Qualitätssicherung verpflichtend sind, lassen sich für cfDNA-Untersuchungen nutzen. Präanalytische Schritte wie die Aufbereitung des Probenmaterials sind strikt einzuhalten. Effektive Eingangs- und Qualitätskontrollen zur Prüfung des Untersuchungsmaterials sind erforderlich. Auf die Bedeutung des Abbaus von Nukleinsäuren im Probenmaterial und ihre Auswirkung auf das Untersuchungsergebnis sowie die Notwendigkeit der Standardisierung haben externe Ringversuche hingewiesen (Ahmad-Nejad-2015). Innerhalb des Labors sind Kenntnisse über Einflussfaktoren erforderlich, die im Rahmen der Stabilisierung oder Abbau von Probenmaterial zu artifiziellen Ergebnissen führen können.

So haben Do und Dobrovic (Do 2015) an fixiertem Material untersucht, wie Deaminierung von Cytosin zu einer hohen Frequenz artifizieller C>T Transitionen führen kann. Unklar ist, wie viele C>T Mutationen in der Literatur auf diesem *in-vitro* Artefakt beruhen. Komplementäre Gruppen von Transitionen A>G und T>C (Typ1) sowie G>A und C>T (Typ 2) sind im Rahmen von DNA-Degradation und Prozessierung *post-mortem* beschrieben (Gilbert 2003) und kürzlich auch als Quelle von Sequenzartefakten in unterschiedlichen

NGS-Sequenzierungstechnologien identifiziert werden (Chen 2014).

Diese Aspekte weisen klar auf die erhebliche Bedeutung qualitätssichernder Massnahmen gerade in der molekularen Diagnostik hin. Die Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin hat hierzu seit 1998 umfangreiche externe Ringversuchsprogramme entwickelt, welche medizinischen Laboratorien durch regelmäßige Ringversuchsangebote zu Genotypisierung, zu Qualitätssicherung von DNA-Isolation sowie zur technischen und medizinischen Qualitätssicherung von DNA-Sequenzierungen die Möglichkeit der Überprüfung bieten. Diese vom Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) international angebotenen Programme ([www.dgkl-rfb.de](http://www.dgkl-rfb.de)) sind von jeher mit dem Ziel einer verbesserten *in-vitro* Diagnostik interdisziplinär ausgerichtet (Ahmad-Nejad 2015).

Die neuen Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen (RiLiBÄK) regeln im Kapitel B5 die molekular- und zytogenetischen Analysen auch für komplexe molekulare Untersuchungsmethoden im Konsens zwischen Klinischer Chemie und Humangenetik. Die erfolgreiche Kooperation der Ringversuchsorganisationen RfB und des human-genetischen Netzwerks "European Molecular Quality Network" (EMQN) in Manchester sichert hierbei die Qualität einer modernen molekularen Diagnostik aus dem Blutplasma und Körperflüssigkeiten für die medizinischen Laboratorien. Die entsprechenden seit

1989 angebotenen Ringversuchsprogramme ([www.dgkl-rfb.de](http://www.dgkl-rfb.de)) umfassen DNA-Isolation, Genotypisierungs-Programme zu Risikoalellen, Tumormutationen und Pharmakogenetik in der Onkologie sowie DNA-Sequenzierung nach Sanger und NGS (EMQN). Ende 2015 wird in einem ersten Pilotingversuch erstmals eine Qualitätssicherung zu spezifischen Aspekten der Plasma-DNA Diagnostik angeboten werden.

### ZUSAMMENFASSUNG

Die neuen technischen Möglichkeiten der molekularen Diagnostik erlauben die gezielte Aufklärung zirkulierender Nukleinsäuren im peripheren Blut und die Beantwortung diagnostischer Fragen für eine Reihe von Krankheitsentitäten, hier insbesondere bei malignen Erkrankungen. Aus der Perspektive einer molekularen Pathologie haben Dahl et al. kürzlich die Plasmadiagnostik molekularer Tumordefekte vor dem Hintergrund der gewebebasierten Verfahren kritisch beleuchtet (Dahl 2015). Unstrittig ist die maßgebende Bedeutung einer Identifikation relevanter molekularer Defekte aus dem Tumorgewebe für therapeutische Entscheidungen. Es ist aufgrund der sich mehrenden Erkenntnis inzwischen dennoch absehbar, dass sich die Plasma-Diagnostik bei Tumorkranken mit der fortschreitenden Entwicklung der Methodik zu einer komplementären Strategie für das gewebebasierte Tumor-Profilung – insbesondere im Hinblick auf das Monitoring des Therapieansprechens und des weiteren Krankheitsverlaufs – entwickeln wird.

Die Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin besitzt durch ihre herausragende Expertise und Leistungsfähigkeit in der phäno- und genotypisierenden biomolekularen Analytik sowie ihren einzigartigen Track-Record in der umfassenden Qualitätssicherung von Laboruntersuchungen die notwendigen Voraussetzungen zu einer effizienten Implementation in der medizinisch-diagnostischen Krankenversorgung. Hierbei ist ein interdisziplinärer Dialog wünschenswert, um die Potenziale dieses neuen Diagnostikfeldes für die therapeutische Medizin und damit den Patienten zu mobilisieren.

### LITERATUR

1. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 426-37.
2. Fleischhacker M, Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer – a survey. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775: 181-232.
3. Holdenrieder S. Circulating nucleic acids in therapy monitoring. In P.B. Gahan (ed.), *Circulating Nucleic Acids in Early Diagnosis, Prognosis and Treatment Monitoring, Advances in Predictive, Preventive and Personalised Medicine* 5, Springer, 2014: 309-348.
4. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F et al. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol* 2013; 10: 472-84.
5. Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *BMJ*. 2011; 342: c7401.
6. Kitzman JO, Snyder MW, Ventura M, et al. Noninvasive whole-genome sequencing of a human fetus. *Sci Transl Med*. 2012; 4: 137ra76.

7. Diaz LA Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol.* 2014; 32: 579-86.
8. Duffy MJ, Crown J. Companion biomarkers: paving the pathway to personalized treatment for cancer. *Clin Chem* 2013; 59: 1447-56.
9. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S et al. Intra-tumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012; 366: 883-92.
10. Diehl F, Schmidt K, Choti MA et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008; 14: 985-90.
11. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 2014; 6: 224ra24.
12. Alix-Panabières C, Schwarzenbach H, Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Annu Rev Med.* 2012; 63: 199-215.
13. Freidin MB, Freydina DV, Leung M, et al. Circulating Tumor DNA Outperforms Circulating Tumor Cells for KRAS Mutation Detection in Thoracic Malignancies. *Clin Chem.* 2015 Aug 13. pii: clinchem.2015.242453.
14. Higgins MJ, Jelovac D, Barnathan E et al. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 3462-9.
15. Janku F, Angenendt P, Tsimberidou AM, et al. Actionable mutations in plasma cell-free DNA in patients with advanced cancers referred for experimental targeted therapies. *Oncotarget.* 2015; 6: 12809-21.
16. Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2013; 368: 1199-1209.
17. Misale S, Yaeger R, Hobor S et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature* 2012; 486: 532-6.
18. Murtaza M, Dawson SJ, Tsui DW et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature* 2013; 497:108-12.
19. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med.* 2015; 21: 795-801.
20. Ahmad-Nejad P, Duda A, Sucker A, et al. Assessing quality and functionality of DNA isolated from FFPE tissues through external quality assessment in tissue banks. *Clin Chem Lab Med.* 2015 Jun 6. (ahead of print)
21. Do H, Dobrovic A. Sequence artifacts in DNA from formalin-fixed tissues: causes and strategies for minimization. *Clin Chem.* 2015; 61: 64-71.
22. Gilbert MT, Hansen AJ, Willerslev E, et al. Characterization of genetic miscoding lesions caused by postmortem damage. *Am J Hum Genet.* 2003; 72: 48-61.
23. Chen G, Mosier S, Gocke CD, et al. Cytosine deamination is a major cause of baseline noise in next-generation sequencing. *Mol Diagn Ther.* 2014; 18: 587-93.
24. Dahl E, Jung A, Fassunke J, et al. Chancen und Risiken der blut-basierten molekularpathologischen Analytik zirkulierender Tumorzellen (CTC) und zellfreier DNA (cfDNA) in der personalisierten Krebstherapie. Eine Stellungnahme des Arbeitskreises „Liquid Biopsy“ der AG Molekularpathologie in der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP). *Pathologe.* 2015; 36: 92-7.

VERFASSER:

Univ.-Prof. Michael Neumaier  
DGKL Präsident

PD Dr. Stefan Holdenrieder  
Institut f. Klinische Chemie  
und Klinische Pharmakologie  
Universitätsklinikum Bonn  
Sigmund-Freud-Straße 25, 53127 Bonn

**Das ausführliche Positionspapier „Molekulare labormedizinische Diagnostik im peripheren Blut und in Körperflüssigkeiten“ ist auf der [DGKL-Homepage](#) veröffentlicht.**

## Forschungsbericht

# Untersuchung der spezifischen Endothel-Interaktion von *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* in der infektiösen Endokarditis

Gefördert durch die Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik

Tanja Vollmer, Melanie Weinstock, Jens Dreier, Cornelius Knabbe

Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Herz- und Diabeteszentrum  
Nordrhein-Westfalen, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum

### ABSTRACT

*Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* (*S. gallolyticus*) wird in ca. 20 % der Streptokokken-bedingten Endokarditiden als kausatives Pathogen nachgewiesen. Die zugrunde liegenden Pathomechanismen sowie die Wechselwirkungen zwischen humanen Zellen und diesem Pathogen sind allerdings bislang noch weitgehend ungeklärt.

Die Interaktion verschiedener *S. gallolyticus* Isolate mit humanen Zellen im inflammatorischen Kontext der IE wurde in verschiedenen Modellsystemen (Vollblut, Zellkultur-Modellsysteme: Monozyten, Makrophagen (THP-1)) untersucht. Im Vollblut-Modellsystem konnten Einflüsse durch individuelle Wirts-Faktoren auf die bakterielle Wachstumskinetik sowie auf das Induktionspotentials verschiedener *S. gallolyticus* Isolate von Interleukin-6 (IL6) nachgewiesen werden. Des Weiteren konnten stammabhängige Unterschiede hinsichtlich der Induktion

der Genexpression der inflammatorischen Zytokine Interleukin-1 $\beta$  (IL1B), IL6 und Interleukin-8 (IL8) im monozytären Zellkultur-Modellsystemen, sowie eine starke Varianz in Bezug auf die Phagozytose verschiedener *S. gallolyticus* Isolate durch Makrophagen aufgezeigt werden.

Eine Analyse von Einzelnukleotid-Varianten (ENV) in einem Endokarditis-Patientenkollektiv zeigte potentielle Zusammenhänge zwischen dem ENV Interleukin-6 c.471+870G>A und der Suszeptibilität gegenüber einer IE auf.

Durch die Entwicklung eines Microarrays zur Analyse von 203 bakteriellen Virulenzgenen konnte eine stammabhängige heterogene Ausstattung mit Virulenzgenen in den verschiedenen *S. gallolyticus* Isolaten detektiert werden.

## EINLEITUNG

Die infektiöse Endokarditis (IE) ist eine Entzündung der Herzinnenhaut (Endokard), hervorgerufen durch Mikroorganismen, die durch Verletzungen der Haut oder über die Schleimhäute in die Blutbahn gelangen und am Endokard adhären. Im Rahmen der bakteriell bedingten IE finden sich im Bereich der Gram-positiven Erreger primär drei Gattungen: (1) *Streptococcus*, (2) *Staphylococcus* und (3) *Enterococcus*. Innerhalb der Streptokokken-bedingten Endokarditiden konnte *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* (*S. gallolyticus*) mit einer Häufigkeit von 20 % als ursächlicher Erreger nachgewiesen werden [Sillanpää et al., 2008; Vollmer et al., 2010b]. *S. gallolyticus* ist ein Kommensale des Gastrointestinaltraktes von Mensch und Tier und tritt als Opportunist oder Infektionserreger (IE, Sepsis, Mastitis, Assoziation mit Kolonkarzinomen) auf. Ein zoonotisches Potential wird derzeit diskutiert [Dumke et al., 2014, Dumke et al., 2015].

Die Ausbildung einer infektiösen Endokarditis beginnt mit der Adhäsion von im Blut zirkulierenden Bakterien an das Endokard. Im zweiten Schritt ist die bakterielle Kolonisation und Persistenz entscheidend für das weitere Fortschreiten des Krankheitsbildes. Die Adhäsion von Bakterien an das Endothel hat verschiedene Konsequenzen. Zum einen wird die entstehende Vegetation durch ein Netzwerk aus Fibrin und Thrombozyten

umgeben, so dass sie vor Makrophagen und anderen Komponenten der Immunreaktion geschützt ist [Moreillon et al., 2002]. Die lokale Gerinnungskaskade wird über die aktivierte Immunantwort auf umliegende Zellen ausgeweitet, wodurch die Vegetationsausbildung weiter gefördert wird [Chorianopoulos et al., 2009]. Zum anderen wird die Zytokinausschüttung endothelialer Zellen durch Monozyten induziert sowie die apoptotische Signalkaskade eingeleitet [Nobbs et al., 2009]. Der bakterielle Einfluss auf die inflammatorische Reaktion des Wirtes kann die Vegetationsausbildung fördern, so dass dieser eine essentielle Rolle in der Pathogenese einnehmen könnte. Aufgrund der bestehenden Assoziation zwischen *S. gallolyticus*-Endokarditiden und Kolonkarzinomen beschrieben Boleji et al. ein hypothetisches Modell, bei dem eine parazelluläre Translokation von *S. gallolyticus* über das Darmepithel erfolgt. Da dieser Organismus als Kommensale der Darmflora potentiell vom humanen Immunsystem nicht in vollem Ausmaß erkannt wird, kann nachfolgend die persistente Kolonisierung Kollagen-reicher endokardialer Strukturen erfolgen [Boleji et al., 2011].

Neben dem inflammatorischen Stimulationspotential spielt auch das Vorhandensein spezifischer Virulenzgene der Erreger bei der Ausbildung der IE eine entscheidende Rolle. Grundlage für eine erfolgreiche Adhärenz ist dabei die Interaktion von Oberflächenstrukturen der Bakterien mit der Wirtszelle.

Mithilfe zelleigener Oberflächenmoleküle (MSCRAMM, *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*) können mikrobielle Pathogene an die Wirtszelle adhären. Eine weitere spezielle Gruppe der bakteriellen Virulenzgene bilden Gene, die für Proteine mit LPxTG Motiv kodieren. Das Aminosäuremotiv LPxTG dient dabei als Erkennungssequenz für die membranständige Sortase, welche die Spaltung des Proteins und deren kovalente Bindung an das Peptidoglycan der Bakterienzellwand veranlasst. Das so präsentierte Protein kann wiederum der Adhäsion an wirtsspezifische ECM (*extracellular matrix*)-Bestandteile dienen.

Im Rahmen dieses Forschungsprojektes sollten verschiedene Modelle zur systematischen Analyse der Unterschiede im Stimulationspotential verschiedener *S. gallolyticus* Isolate etabliert werden. Da das Wissen über putative Virulenzfaktoren von *S. gallolyticus* bislang begrenzt ist, sollte außerdem ein DNA-Microarray zur Detektion relevanter Virulenzgenmuster entwickelt werden. Als Grundlage für die Chipentwicklung wurde die in dieser Arbeitsgruppe annotierte komplette Genomsequenz des Stammes BAA-2069 verwendet [Hinse *et al.*, 2011].

## METHODEN

### *Bakterienkultur*

Die Anzucht aller Bakterien Stämme erfolgte auf BHI (Brain Heart Infusion)-Agarplatten oder in BHI-Flüssigmedium bei 37 °C über

Nacht im Brutschrank (Agarplatten) bzw. bei 220 rpm (Flüssigkultur) im Inkubator.

### *Zellkulturmodelle*

Alle Zellkulturen wurden im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Für die Inokulation mit *S. gallolyticus* wurden mit DPBS gewaschene und in RPMI1640 mit 10 % FCS verdünnte stationäre Übernkulturen verwendet.

Die endotheliale Zelllinie EA.hy926 und die monozytäre Zelllinie THP-1 wurden in RPMI1640 (Gibco) mit 10 % FCS ohne Antibiotika/Antimykotika (AB/AM) kultiviert. Für die Genexpressionsanalyse wurde die Suspensionszelllinie THP-1 wurde nach Pelletieren durch Zentrifugation im Lysepuffer des RNA-Isolierungskits aufgenommen. Die adhären Zellen wurden direkt nach Abnahme des Überstandes in den Kavitäten lysiert.

Nach Inokulation wurde die Genexpression mittels relativer Quantifizierung der Gene *IL1B*, *IL6* und *IL8* analysiert.

Im Vollblut-Modellsystem wurde Vollblut im Volumenverhältnis 1 zu 10 mit Bakterien inokuliert. Zu verschiedenen Zeitpunkten (0, 6, 24 und 48 h) wurde der bakterielle Titer sowie die IL6-Plasma-Konzentration (quantitativer IL6-ELISA, Thermo Scientific) bestimmt.

Zur Untersuchung der Phagozytose wurden THP-1 Zellen mittels Phorbol-12-myristat-13-acetat (PMA) innerhalb von drei Tagen

zu Makrophagen differenziert. *S. gallolyticus* wurde auf die Zellen zentrifugiert, nach 30 min der Überstand abgenommen und die intrazellulären Bakterien nach selektiver Saponin-Lyse der humanen Zellen quantifiziert.

### **Analyse Virulenz-relevanter bakterieller Proteinstrukturen**

Zur vergleichenden Analyse bakterieller Oberflächenstrukturen und sekretierter Proteine verschiedener *S. gallolyticus* Stämme wurden Kulturen in der exponentiellen Phase verwendet, mit DPBS gewaschen und partiell mit 20 µg/ml Trypsin oder 5 µg/ml Proteinase K („shaved“ Peptide) verdaut bzw. nicht proteolytisch mit PBS inkubiert („shed“ Peptide). Im Anschluss wurden die Bakterien zentrifugiert und die Peptide im Überstand mittels TCA-Fällung gefällt. Die Peptidmuster wurden mittels SDS-PAGE getrennt und nach anschließender Silberfärbung verglichen. Des Weiteren wurden die Peptide zur Stimulation der THP-1-Zellen durch Inokulation von 106 Zellen/ml mit 50 µg/ml Peptiden für 6 h inkubiert und die IL6-Proteinkonzentration im Kulturüberstand bestimmt.

### **Microarray**

Basierend auf der Genomanalyse der drei komplett sequenzierten *S. gallolyticus* Genome (UCN34 (GenBank Accession Nummer: FN597254), TX20005 (GenBank Accession Nummer: AEEM00000000), BAA-2069 (GenBank Accession Nummer: FR824043, FR824044), wurden 203 Gene mit

potentieller Virulenz- und Resistenz-Assoziation für die Detektion ausgewählt (LPxTG Motiv, MSCRAMMs). Für jedes dieser Gene wurde mindestens eine Sonde zur Detektion und ein Primer zur Amplifikation konzipiert. Bei größeren Genen ab zirka 1.500 bp wurden zwei *Targets* pro Gen definiert. Der Nachweis spezifischer Gene erfolgte durch eine lineare Amplifikation mit dem Einbau biotinhaltiger dUTPs in sechs Multiplexansätzen. Im Anschluss wurde die amplifizierte DNA über Nacht auf dem *Microarray* hybridisiert, die Detektion erfolgte über ein Streptavidin-gekoppeltes Cy3-Fluorophor mit dem Array-Scanner GenePix 4300A (Molecular Devices, Ismaning, Germany).

## **ERGEBNISSE UND DISKUSSION**

### *Etablierung verschiedener Modellsysteme zur Charakterisierung der inflammatorischen Stimulation durch verschiedene Isolate*

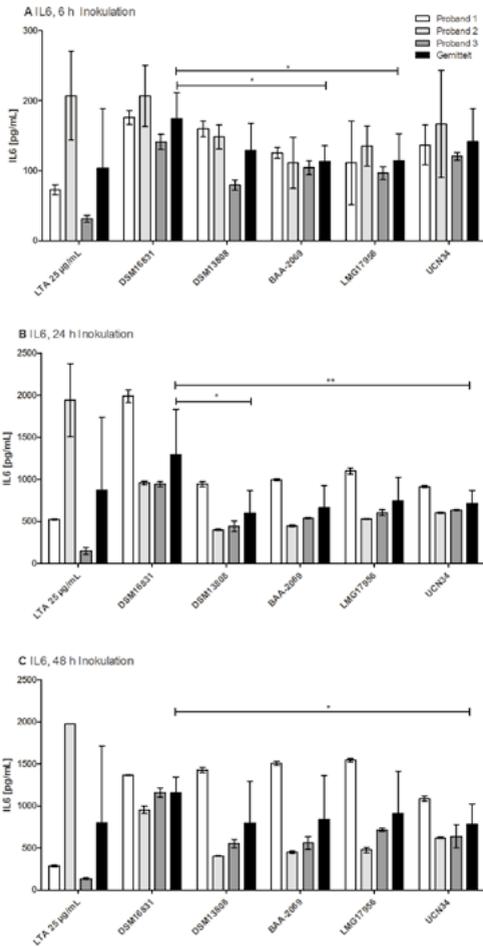
Um die Orchestration der Inflammation der jeweiligen Zelltypen nach Stimulation mit *S. gallolyticus* abbilden zu können, wurden unterschiedliche Zellkulturmodellsysteme mit humanen Endothelzellen und Monozyten etabliert. Die Systeme umfassten Monokulturen einer Endothel- und Monozytenzelllinie sowie zwei verschiedene Ko-Kultur-Modellsysteme (Einkompartiment-System: direkter Zell-Zell-Kontakt, Zweikompartiment-System: Austausch löslicher Stoffe bei Separation der Zelllinien durch Zellkultur-Einsatz), sowie ein Vollblutmodellsystem.

Das Eindringen von Bakterien in den Blutstrom und die daraus resultierende Bakteriämie ist eine Voraussetzung für die Entstehung einer IE. Folglich sind ebenso das Überleben der Bakterien sowie das Stimulationspotential des Immunsystems im Vollblut für die Ausbildung einer IE relevant. Aufgrund dessen wurde zunächst das bakterielle Wachstum verschiedener *S. gallolyticus*-Isolate im Vollblut sowie deren Induktionspotential der IL6-Synthese untersucht. Der Vergleich der Wachstumskinetik im Vollblut von drei gesunden Probanden zeigte Isolat-spezifische Unterschiede bezüglich des Überlebens. Des Weiteren konnte ein probandenspezifischer Einfluss auf die Wachstumskinetik von zwei der fünf analysierten Stämme (DSM16831: verringerte Wachstumsrate, UCN34: erhöhte Wachstumsrate) nachgewiesen werden. Im anschließenden Vergleich der IL6-Konzentration induzierte dieses Isolat die Inflammation im Vergleich zu den anderen Isolaten deutlich früher (Abbildung 1). Für Proband 1 konnte für das Isolat DSM16831 nach 24 h eine maximale IL6-Stimulation aufgezeigt werden, welche anschließend wieder abnahm. Die Inflammation in den Probanden 2 und 3 wurde später induziert als bei Proband 1. Da die anderen Isolate bei diesem Probanden nach 48 h nur eine leichte Erhöhung zeigten, kann angenommen werden, dass diese Isolate die IL6-Synthese später als das Isolat DSM16831 induzieren. Durch die Inokulation von *S. gallolyticus* im Vollblut-Modellsystem konnten

schlussendlich zwei Aspekte aufgezeigt werden: (1) der Vergleich zwischen der Wachstumskinetik und der IL6-Induktion lässt einen Zusammenhang zwischen einer höheren IL6-Induktion und einer Abnahme des bakteriellen Titers vermuten, (2) es sind starke zeitliche Unterschiede im Stimulationspotential der verschiedenen Isolate vorhanden.

Für die destruktive Natur und das Ausmaß ist neben bakteriellen Virulenzfaktoren auch die inflammatorische Reaktion des Patienten ausschlaggebend. Aufgrund der hier gesehenen Divergenzen in der Induktion der IL-6 Synthese der einzelnen Probanden wurden Einzelnukleotidvarianten (ENV), die eine Prädisposition für eine Suszeptibilität gegenüber der IE bzw. eine Beeinflussung des Krankheitsverlaufes beinhalten könnten, mittels Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus-Analysen (RFLP) analysiert [Weinstock et al., 2014]. Insgesamt wurden 14 ENV in Genen, die für Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-6, Interleukin-10, Toll-Like-Rezeptor-4, Tumor-Necrosis-Factor- $\alpha$ , E-Selektin und ICAM-1 untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass die Genotypenfrequenz eines ENV im Interleukin-6 Gen (c.471+870G>A) eine unterschiedliche Verteilung in der IE-Patientengruppe und dem Kontrollkollektiv zeigte.

In verschiedenen Modellen mit einer endothelialen und einer monozytären Zelllinie wurde die inflammatorische Reaktion bei Kontakt zwischen dem Pathogen und

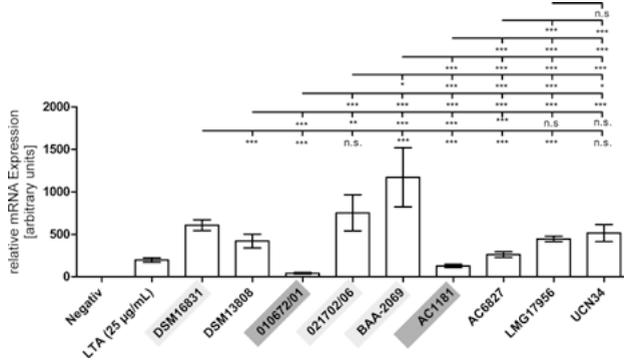


**Abbildung 1:** IL6-Proteinexpression im Vollblut-Modellsystem (3 Probanden und gemittelte Proteinkonzentration) bei Inokulation mit fünf verschiedenen *S. gallolyticus* Isolat nach 6 h (A), 24 h (B) und 48 h (C). Dargestellt ist der Mittelwert mit Standardabweichung. \*: P < 0,05; \*\*: P < 0,005 (Mann Whitney Test).

humanen Zellen näher charakterisiert, um potentielle divergente Phänotypen hinsichtlich der Induktion inflammatorischer Parameter zu identifizieren. Das Induktionspotential wurde anhand der relativen Quantifizierung

der Genexpression der Gene *IL1B*, *IL6* und *IL8* untersucht. In Abbildung 2 sind exemplarisch die Ergebnisse für *IL6* dargestellt.

In allen Modellsystemen konnte zum einen eine inflammatorische Genexpressionserhöhung als Reaktion auf unterschiedliche Isolate gezeigt werden, zum anderen wurden stammabhängige Divergenzen zwischen einzelnen Isolat bezüglich ihres Stimulationspotentials nachgewiesen. Im Vergleich zeigten die Endothelzellen in Monokultur dabei die geringsten Veränderungen



**Abbildung 2:** Relative Genexpression der monozytären Zelllinie THP-1 nach Inokulation mit neun verschiedenen *S. gallolyticus* Isolat, exemplarisch für das Zielgen *IL6*. Hellgrauer Hintergrund: starke Induktion, dunkelgrauer Hintergrund: schwache Induktion. Die Signifikanzen des Vergleichs der Isolat untereinander sind oberhalb der Grafik angegeben. \*\*\*: P < 0,0005; \*\*: P < 0,005; \*: P < 0,05; n.s.: nicht signifikant (Mann Whitney Test). Die Genexpression wurde normiert auf die zwei Referenzgene Hypoxanthin-Phosphoribosyl-Transferase 1 und Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase.

im Genexpressionsprofil (maximal 2-fache Erhöhung nach 2 h bzw. 6 h Inokulation). Eine stärkere inflammatorische Genexpression konnte in den anderen Modellen gezeigt werden. In der Monozyten-Monokultur zeigte

sich nach 2 h ebenfalls nur eine geringe Induktion der Gen-expression vergleichbar zu den Ergebnissen der Endothelzell-Monokultur, nach 6 h Inokulation wurde für alle Gene jedoch eine deutlich stärkere Induktionen der Genexpressionen bestimmt. Im Stammvergleich konnten zwei Isolate (010672/01 und AC1181) identifiziert werden, welche diese inflammatorischen Marker signifikant geringer induzierten, während ein Isolat (BAA-2069) die Genexpressionen der untersuchten Parameter stark induzierte (*IL1B*: 440-fache Steigerung, *IL6*: 1172-fache Steigerung). Die Ko-Kultur-Modellsysteme aus Monozyten und Endothelzellen zeigten im Vergleich zu den Monokultur-Modellsystemen keine starke gegenseitige Beeinflussung hinsichtlich der Induktion der Genexpression durch die Isolate. Das Endothel zeigte ebenso wie in der Monokultur nur marginale Veränderungen der Genexpression nach Inokulation mit *S. gallolyticus*, analog zu den Ergebnissen der Monozyten-Monokultur konnte eine vergleichbare Induktion der Genexpression nachgewiesen werden. Allerdings konnte ein Einfluss auf das bakterielle Wachstum gezeigt werden, da beispielsweise für zwei Isolate bei der Ko-Kultivierung im Einkompartiment-System ein deutlich reduziertes Wachstum detektiert werden konnte.

Des Weiteren wurde der Fokus auf die zelluläre Immunabwehr gerichtet. Die Etablierung einer Vegetation am Endokard steht in einem Zusammenhang mit der Phagozytose und der Abtötung der Bakterien durch Makrophagen. In dem etablierten

Phagozytose-Modellsystem wurden Unterschiede in der Phagozytoserate sowie im intrazellulären Überleben nach Phagozytose durch Quantifizierung der durch Makrophagen phagozytierten Bakterien analysiert. Der Vergleich zu einem *S. aureus* Isolat zeigte zunächst, dass die *S. gallolyticus* Isolate zu einem geringeren Anteil phagozytiert werden und Isolat-spezifische Unterschiede erkennbar sind (siehe Abbildung 3).

Das Isolat AC6827 wurde zu einem signifikant geringeren Anteil phagozytiert als die Isolate DSM16831, BAA-2069 und UCN34 (1,4 % vs. 5,4 – 29,6 %).

Innerhalb von 48 h zeigten alle Isolate

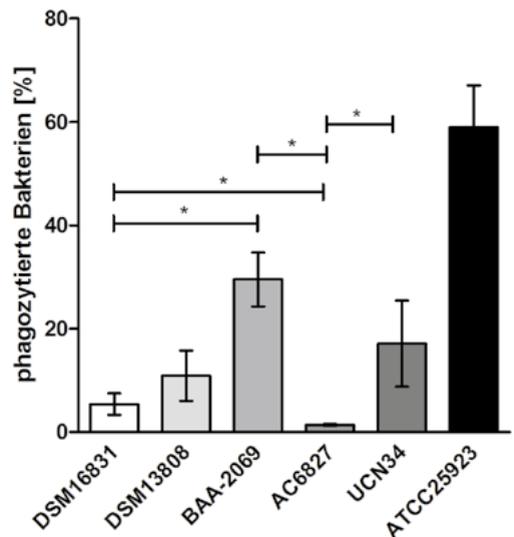


Abbildung 3: Phagozytoserate der Stämme *S. gallolyticus* DSM16831, DSM13808, BAA-2069, AC6827 und UCN34 (n=4) im Vergleich mit *S. aureus* ATCC25923 (n=2). Dargestellt sind Mittelwert und Standardfehler. \* P < 0,05 (Mann Whitney Test).

einen nahezu vollständigen Abbau innerhalb der Phagosomen. Allerdings konnte für zwei Isolate (BAA-2069 und UCN34) ein konstanter intrazellulär bakterieller Titer zwischen 8 - 12 h bzw. 8 - 16 h bestimmt werden, was auf eventuelle Schutzmechanismen von *S. gallolyticus* vor dem Abbau im Phagosom hindeuten könnte. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Isolate sehr lange in Makrophagen überleben können, was ebenfalls auf spezifische Schutzmechanismen vor dem phagozytotischen Abbau der Bakterien hindeutet.

#### *Analyse Virulenz-relevanter bakterieller Proteinstrukturen*

Die vergleichende Analyse von bakteriellen Oberflächenstrukturen („shaved“ Peptide) mit sekretierten Proteinen („shed“ Peptide) zeigte in der SDS-PAGE nach Silberfärbung individuelle Bandenmuster für jedes Isolat. Die Stimulation der monozytären Zelllinie THP-1 mit „shaved“ und „shed“ Peptiden zeigte zum einen Unterschiede im Stimulationspotential der eingesetzten Peptidspezies, zum anderen konnten erneut stammabhängige Unterschiede im Stimulationspotential detektiert werden. Beispielsweise konnten für das Isolat 010672/01 weder „shaved“ noch „shed“ Peptide die Stimulation von Monozyten induzieren. „Shaved“ Peptide des Isolates UCN34 und BAA-2069 wiesen ein vergleichbares Stimulationspotential auf, allerdings war die Stimulation durch „shed“ Peptide des Isolates UCN34 deutlich höher. Dieser Aspekt könnte auf die Notwendigkeit einer nativen Proteinkonformation für eine

effektive Reaktion der Wirtszelle auf das fakultative Pathogen hindeuten.

#### *Charakterisierung der genotypischen Diversität von Virulenzfaktoren*

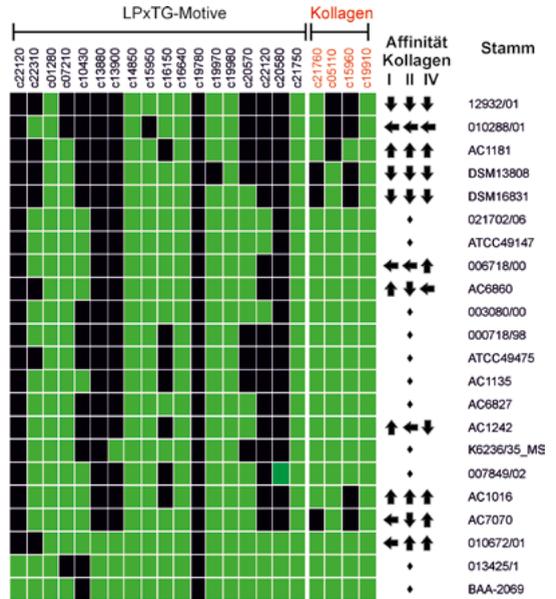
Um eine Korrelation zwischen phänotypischen Charakteristika und dem Vorkommen spezifischer Virulenzgenmuster zu determinieren wurde ein DNA-Microarray entwickelt. Insbesondere wurden Gruppen von Genen betrachtet, die für LPxTG-Proteine kodieren, sowie für MSCRAMMs, Kapselproteine oder die Kollagenbindefähigkeit. Insgesamt wurde das Virulenzgenmuster von 64 *S. gallolyticus* Stämmen mit dem etablierten Microarray analysiert. Der Überblick zeigt eine stammabhängige, sehr heterogene Ausstattung mit potentiellen Virulenzgenen innerhalb des *S. gallolyticus* Kollektives. Dieses Stammkollektiv enthielt klinische Isolate von IE-Patienten, tierische Isolate aus unterschiedlichen Tierspezies sowie Umwelt-Isolate. [Dumke *et al.*, 2014, Dumke *et al.*, 2015]

Es konnte gezeigt werden, dass *S. gallolyticus* im Gegensatz zu anderen Gram-positiven intestinalen Pathogenen ein höheres Potential der Biofilmbildung aufweist und damit die Kollagenbindung einen zentralen Faktor in der Pathogenese darstellen könnte [Boleij *et al.*, 2011]. Die Analyse der Kollagenadhäsion erfolgte analog wie bereits beschrieben [Vollmer *et al.*, 2010a]. Vergleicht man die Adhäsionsfähigkeit an die Kollagene I, II und IV (Abbildung 4) zeigt sich ein divergentes Bild, bei dem besonders die Stämme DSM16831, DSM13808 und Isolat

12932/01 mit einem niedrigen Adhäsionsvermögen auffallen. Die Stämme AC1181 und AC1016 weisen im Gegensatz eine besonders hohe Adhäsionsfähigkeit an alle Kollagentypen auf. Bei Betrachtung der Gesamtergebnisse des *Micorarrays* für alle 64 Stämme in Bezug auf die für die Kollagenadhäsion verantwortlichen Targets ergibt sich ein dreigeteiltes Bild. In zirka 50 % der Isolate sind all diese Gene vorhanden, in neun Stämmen fehlt jeweils ein Gen und in 20 Isolaten fehlen zwei Gene. Lediglich in einem Isolat sind drei Gene nicht nachweisbar. In allen Isolaten, die eine durchschnittliche Adhäsion an Kollagene zeigen, konnten alle vier Targets nachgewiesen werden. Tendenziell lässt sich erkennen, dass die Adhäsion eines Isolates an Kollagen generell erniedrigt ist, wenn sowohl das Gen *cna1* (c15960), als auch ein weiteres Target nicht nachweisbar sind. Das alleinige Fehlen eines Genes scheint hingegen keine signifikante Änderung der Bindungsfähigkeit an Kollagen zu verursachen. Weiterhin zeigt sich, dass das Isolat *S. gallolyticus* DSM16831, welches als einziger Stamm *in vitro* keine Invasion an EA.hy926 Zellen zeigte [Vollmer *et al.*, 2010a], eine niedrige Adhäsion an Kollagen und ein Fehlen von zwei putativen Kollagen-Adhäsionsgenen aufweist.

Bei der Erweiterung der Analyse auf alle für ein LPxTG-Motiv kodierende *Targets*, zeigt sich ebenfalls ein sehr heterogenes Bild bezüglich der Ausstattung mit potentiellen Virulenzgenen für die 64

untersuchten Stämme: <10 Gene: 5 Stämme, 10 – 15 Gene: 34 Stämme, 16 – 20 Gene: 25 Stämme. Eine Korrelation zur Kollagenbindungs-fähigkeit besteht jedoch nicht. Beim



**Abbildung 4: Exemplarische Darstellung der Ergebnisse der Microarray-Experimente für LPxTG-Motive und kollagenbindende Targets.** Positiv nachgewiesene Gene sind grün dargestellt, nicht nachgewiesene Gene schwarz. Betrachtet werden ausschließlich Gene, die für LPxTG-Motive kodieren oder für die Kollagenbindung verantwortlich sind. Pfeile zeigen die Bindungsfähigkeit der getesteten Stämme an Kollagen I, Kollagen II und Kollagen IV. ↑: hohe Affinität, ←: durchschnittliche Affinität, ↓: geringe Affinität, ◆: durchschnittliche Bindung an alle Kollagene.

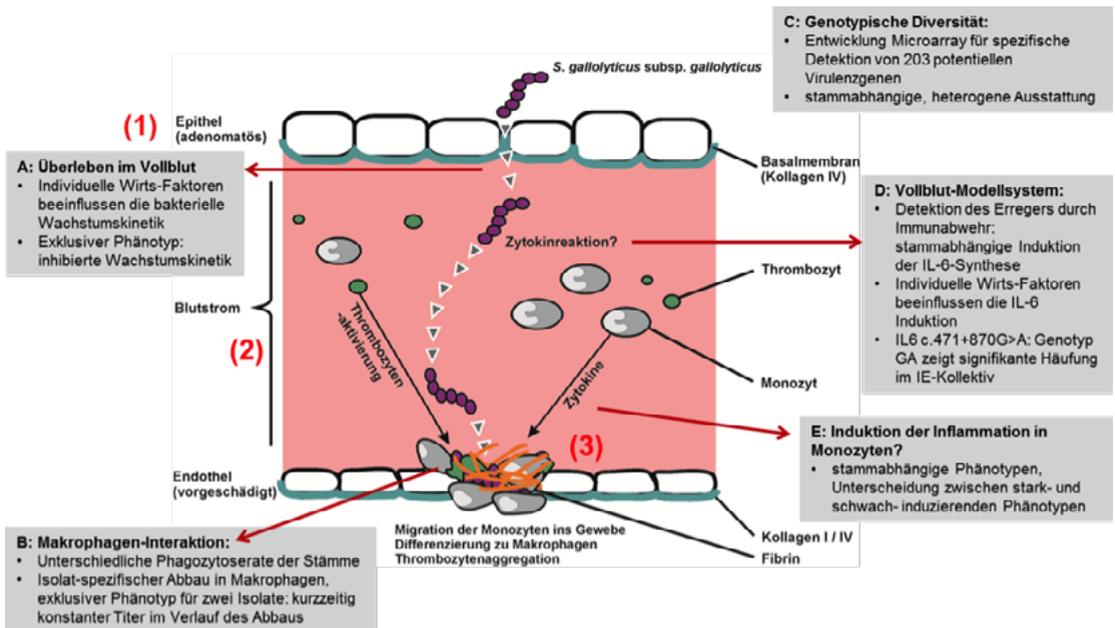
direkten Vergleich des Virulenzgenmusters des tierischen Isolates DSM16831 mit dem humanen Isolat BAA-2069 (sehr hohes Invasionspotential in Endothelzellen), zeigte sich insgesamt für das Isolat BAA-2069 die höchste Anzahl von 20 putativen Virulenzgenen. Für das tierische Isolat konnten hingegen nur 12 putative Virulenzgene detektiert werden.

Ausgehend von der Beobachtung, dass das Isolat DSM16831 als einziger Stamm kein Invasionspotential und ein vergleichsweise geringes Adhäsionspotential aufwies [Vollmer *et al.*, 2010a], wurde außerdem eine Auswertung der Microarray-Experimente durchgeführt, die als Grundlage ausschließlich alle im Isolat DSM16831 nicht nachweisbaren Targets beinhaltet. Alle positiv getesteten Gene wurden nicht berücksichtigt. Ein zu Isolat DSM16831 identisches Spektrum nachweisbarer Genen zeigte keines der getesteten Isolate. Bei der Betrachtung weiterer *S. gallolyticus* Isolate, die eine geringe Invasion an EA.hy926 Zellen zeigten, erscheint

das Vorhandensein spezifischer Virulenzgene über das gesamte Nachweisspektrum verteilt. Es konnten keine aussagekräftigen Gemeinsamkeiten der gering-invasiven Isolate detektiert werden. Auch weitere spezifische Gruppierungen sind nicht ersichtlich.

## ZUSAMMENFASSUNG

Alle Ergebnisse dieses Forschungsprojektes sind in Abbildung 5 zusammengefasst.



**Abbildung 5:** Pathophysiologischer, hypothetischer Zusammenhang zwischen der durch *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*-bedingten infektiösen Endokarditis (IE) und malignen Veränderungen im humanen Kolon (modifiziert nach [Bolej *et al.*, 2011]). (1) Bakterielle Adhärenz im Darm lumen an das Epithel, parazellulärer Transport in den Blutstrom, (2) Transport der Bakterien über den Blutstrom an das endokardiale Endothel und bakterielle Adhärenz, (3) Aktivierung inflammatorischer Parameter, Anlagerung von Thrombozyten, Migration von Makrophagen ins Gewebe (modifiziert nach [Benoit *et al.*, 2010; Bolej *et al.*, 2011; Moreillon *et al.*, 2002]). In grau hinterlegten Feldern sind die Ergebnisse dieses Forschungsprojektes zusammengefasst.

## AUSBLICK

Im Rahmen dieses Forschungsprojektes konnte gezeigt werden, dass für *S. gallolyticus* bezüglich der Interaktion mit humanen Zellen im inflammatorischen Kontext der IE divergente Phänotypen vorliegen. Sowohl das Induktionspotential der inflammatorischen Reaktion, als auch die Interaktion verschiedener Isolate mit Makrophagen und Thrombozyten variieren. In weiterführenden Studien sollen die bakteriellen Virulenzfaktoren, die für diese Divergenzen verantwortlich sind, durch *Knock-out*- und Komplementationsexperimente identifiziert und mit Hilfe der etablierten Zellkultur-Modellsysteme weiter charakterisiert werden. Als Ausgangsbasis sollen hier die Informationen der detektierten Virulenzgene mit dem *Microarray* verwendet werden. Da nicht nur das Vorhandensein spezifischer Virulenzgene, sondern ebenso deren Expression im pathophysiologischen Kontext eine entscheidende Rolle in der Pathogenese spielen kann, soll ebenfalls eine Analyse des bakteriellen Transkriptom Gegenstand zukünftiger Arbeiten sein. Zu diesem Zweck soll basierend auf dem in diesem Forschungsprojekt entwickelten *Microarray* ein Chip zur Analyse der bakteriellen Virulenzgenexpression etabliert werden, um eine Korrelation zwischen der Pathogenität *in vitro* und der Expression spezifischer Gene zu erfassen. Dieser *Microarray* soll sowohl für die Analyse des Virulenzgenexpressionsmusters von *S. gallolyticus* im verwendeten

Makrophagen-Modellsystem als auch für die Analyse weiterer Modellsysteme (Reinkultur, Ko-Kultur Monozyten/Endothel) verwendet werden.

## DANKSAGUNG

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

## AUS DEM PROJEKT HERVORGEGANGENE PUBLIKATIONEN:

- Weinstock, M., Grimm, I., Dreier, J., Knabbe, C., Vollmer, T. (2014). Genetic Variants in Genes of the Inflammatory Response in Association with Infective Endocarditis. PLoS One 9, e110151.
- Dumke, J., Hinse, D., Vollmer, T., Knabbe, C., Dreier, J. (2014). Development and application of a multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*. J Clin Microbiol 52: 2472-78
- Dumke, J., Hinse, D., Vollmer, T., Schulz, J., Knabbe, C., Dreier, J. (2015). Potential transmission pathways of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*. Plos One 10(5):e0126507.

Die einzelnen Teilergebnisse wurden auf verschiedenen Kongressen vorgestellt, u.a. auf der Jahrestagung der DGKL.

## ZITIERTE LITERATUR

1. Benoit, M., Thuny, F., Le Priol, Y., Lepidi, H., Bastonero, S., Casalta, J.P., Collart, F., Capo, C., Raoult, D., Mege, J.L. (2010). The transcriptional programme of human heart valves reveals the natural history of infective endocarditis. *PLoS One* 5, e8939.
2. Boleij, A., Muytjens, C.M., Bukhari, S.I., Cayet, N., Glaser, P., Hermans, P.W., Swinkels, D.W., Bolhuis, A., Tjalsma, H. (2011). Novel clues on the specific association of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* with colorectal cancer. *J Infect Dis* 203, 1101-1109.
3. Chorianopoulos, E., Bea, F., Katus, H.A., Frey, N. (2009). The role of endothelial cell biology in endocarditis. *Cell Tissue Res* 335, 153-163.
4. Hinse, D., Vollmer, T., Ruckert, C., Blom, J., Kalinowski, J., Knabbe, C., Dreier, J. (2011). Complete genome and comparative analysis of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, an emerging pathogen of infective endocarditis. *BMC Genomics* 12, 400.
5. Moreillon, P., Que, Y.A., Bayer, A.S. (2002). Pathogenesis of streptococcal and staphylococcal endocarditis. *Infect Dis Clin North Am* 16, 297-318.
6. Nobbs, A.H., Lamont, R.J., Jenkinson, H.F. (2009). *Streptococcus* adherence and colonization. *Microbiol Mol Biol Rev* 73, 407-450, Table of Contents.
7. Sillanpää, J., Nallapareddy, S.R., Singh, K.V., Ferraro, M.J., Murray, B.E. (2008). Adherence characteristics of endocarditis-derived *Streptococcus gallolyticus* ssp. *gallolyticus* (*Streptococcus bovis* biotype I) isolates to host extracellular matrix proteins. *FEMS Microbiol Lett* 289, 104-109.
8. Vollmer, T., Hinse, D., Kleesiek, K., Dreier, J. (2010a). Interactions between endocarditis-derived *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* isolates and human endothelial cells. *BMC Microbiol* 10, 78.
9. Vollmer, T., Piper, C., Horstkotte, D., Korfer, R., Kleesiek, K., Dreier, J. (2010b). 23S rDNA real-time polymerase chain reaction of heart valves: a decisive tool in the diagnosis of infective endocarditis. *Eur Heart J* 31, 1105-1113.

VERFASSERIN

---

PD Dr. rer. nat. Tanja Vollmer  
 Institut für Laboratoriums- und  
 Transfusionsmedizin  
 Herz- und Diabeteszentrum NRW  
 Georgstrasse 11  
 32545 Bad Oeynhausen  
 E-Mail: tvollmer@hdz-nrw.de

## Dissertation

# Einfluss von körperlicher Aktivität und Schonverhalten auf den Tryptophanstoffwechsel und den Zytokinstatus bei Patienten mit Depression oder somatoformer Störung

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

Aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität

München, Direktor: Professor Dr. med. Daniel Teupser

vorgelegt von Verena Beatrice Kirnich, geb. Selberdinger im Jahr 2014

## ZUSAMMENFASSUNG

### EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht psychobiologische Parameter bei Depression (MD) und somatoformer Störung (SFD) sowie ihre Beeinflussbarkeit durch körperliche Aktivität, respektive Inaktivität.

Ein besonderer Fokus wurde auf den Kynureninstoffwechsel gelegt, da dieser ein bedeutendes Bindeglied zwischen dem Neurotransmittermetabolismus und dem Immunsystem darstellt. Dysregulationen in diesen interagierenden Systemen wurden sowohl bei MD als auch bei SFD wiederholt beschrieben. Demgegenüber bestehen Hinweise, dass körperliche Aktivität pathologische Auffälligkeiten biologischer Systeme ausgleichen kann und das psychische Befinden positiv beeinflusst.

Da bei MD und SFD bisher keine Längsschnittuntersuchung zur Stabilität von Tryptophanmetaboliten in Verbindung

mit pro- und antiinflammatorischen Zytokinen vorlagen, war ein weiteres Ziel, diese Parameter im Studienverlauf auf ihre Stabilität zu untersuchen. Hierfür wurden nur die Messzeitpunkte ohne Intervention verwendet, welche im Abstand von 4 Wochen stattfanden.

### METHODIK:

Zur Datengewinnung analysierten wir die Blutproben (Serum) und psychometrischen Variablen von 117 Probanden (19-65 Jahre), bestehend aus 39 Probanden mit MD (gemäß DSM-IV und ohne Somatisierungskriterien), 24 mit SFD (ohne Depression; bei Männern SSI-6, bei Frauen SSI-8) und 51 gesunden Probanden (KG).

Im Bereich des Aminosäuremetabolismus wurde Tryptophan, die Ausgangssubstanz sowohl für den Serotoninmetabolismus, als auch für den Kynureninmetabolismus gemessen. Als Marker für Serotonin wurde dessen Abbauprodukt 5-Hydroxyindolessigsäure

bestimmt. Zur Analyse des Kynureninstoffwechsels wurde Kynurenin, das Produkt der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO) bzw. der Tryptophandioxygenase (TDO), sowie die Kynureninsäure als Parameter der neuroprotektiven Achse und 3-Hydroxykynurenin als Parameter der neurotoxischen Achse gemessen. Aufgrund des vorbeschriebenen engen funktionellen Zusammenhanges zwischen Zytokinen und dem Kynureninstoffwechsel wurden die proinflammatorischen Zytokine IL-6 und TNF alpha bestimmt, sowie als antiinflammatorischer Marker IL-1RA.

#### ERGEBNISSE:

Die untersuchten biologischen Parameter wiesen im Gegensatz zu den psychometrischen Parametern, zwischen den einzelnen Messzeitpunkten ohne Intervention, keine signifikanten Schwankungen auf, so dass ein valider Gruppenvergleich möglich war.

Entgegen unserer Erwartungen konnten wir die Ergebnisse einer verminderten Tryptophankonzentration bei MD und bei SFD nicht bestätigen. Allerdings zeigten sich Hinweise auf eine Tryptophanerniedrigung und eine vermehrte IDO Aktivität bei SFD, jedoch ohne das Signifikanzniveau zu erreichen.

Eine mögliche Ursache für den fehlenden Gruppenunterschied bei MD könnte das Altersniveau unserer Population sein. So wurde bei steigendem Alter ein

vermehrter Tryptophanabbau und somit erniedrigte Tryptophanspiegel beschrieben. Dementsprechend zeigte sich in unserer Studie, mit vorwiegend jungen Probanden, bei MD eine signifikant negative Korrelation zwischen Tryptophan und Alter. Ein weiterer Punkt, der die fehlenden Gruppenunterschiede, insbesondere bei MD erklären könnte, ist die fehlende Subdifferenzierung in der Depressionsgruppe, da vor allem beim melancholischen Subtyp der Depression Auffälligkeiten im Tryptophanmetabolismus beschrieben werden. Weiterhin werden Dysregulationen im Tryptophankatabolismus, vor allem bei einem vermehrten Vorliegen psychosomatischer Symptome und Suizidalität beschrieben, welche in unserer Studie bei MD als Ausschlusskriterien galten.

In der geschlechtergetrennten Subgruppenanalyse zeigten sich signifikant verminderte 5-HIAA Spiegel bei Frauen mit Depression im Vergleich zu KG und SFD. Dieser Befund, wenn auch nur in der Subgruppe Frauen, ist konkordant mit zahlreichen Vorstudien zur Serotoninmangelhypothese bei Depression.

Vorbefunde erhöhter Serumkonzentrationen proinflammatorischer Zytokine bei MD konnten in unserer Studie nicht bestätigt werden. Eine mögliche Ursache für den fehlenden Gruppenunterschied, sowohl bei TNF alpha als auch bei IL-6 könnte die Zusammensetzung unserer Studienpopulation, mit

vorwiegend jungen Probanden sein. Dementsprechend wurden bei älteren Personen erhöhte TNF alpha-Spiegel festgestellt. Auch wird ein proinflammatorischer Zytokinstatus vor allem bei rezidivierenden depressiven Episoden und Patienten ohne antidepressiver Therapie beschrieben. Wohingegen unsere Studienpopulation aus ambulanten Patienten mit weniger schweren Verläufen der Depression sowie ca. 20% psychopharmakologischer Vorbehandlung bestand.

Die erhobenen biologischen Parameter zeigten in unserer Studie kein charakteristisches Profil für die einzelnen Patientengruppen, insbesondere konnte bei MD nicht der bereits mehrfach beschriebene proinflammatorische Immunstatus mit Erhöhung von TNF alpha und IL-6 nachgewiesen werden.

Eine mögliche Ursache für fehlende signifikante Gruppennunterschiede bzgl. der SFD-Patienten ist möglicherweise auch die Tatsache, dass Patienten mit stabil eingestellter psychopharmakologischer Medikation in die Studie aufgenommen wurden, und Antidepressiva psychoneuroimmunologische Parameter beeinflussen können. So zeigten sich in unserer Studie bei einer Subgruppe ohne Medikation signifikante Gruppennunterschiede im Kynureninstoffwechsel.

Dies weist auf die Bedeutung des Kynureninstoffwechsels in der Pathophysiologie psychiatrischer Erkrankungen hin, wo er sowohl ein Bindeglied von Neurotransmitter

und Immunsystem darstellt, als auch genetische Komponenten und Umweltfaktoren miteinbezieht.

Als ursächlich für die positiven Auswirkungen körperlicher Aktivität wird eine Modulation der bei MD und SFD postulierten proinflammatorischen Stoffwechsellage beschrieben.

Entgegen unserer Erwartungen führten die Interventionen Sport und Schonung jedoch nur zu geringfügigen biologischen Veränderungen. So konnte durch Sport zwar nicht die vorbeschriebene Tryptophan-erhöhung gezeigt werden, allerdings konnte nach der Intervention Ruhe eine signifikant erniedrigte Tryptophankonzentration bei SFD im Vergleich zu KG ( $p=0,03$ ) und MD ( $p=0,046$ ) nachgewiesen werden. Auch konnten signifikant erniedrigte 5-HIAA Konzentrationen bei SFD nach der Intervention Ruhe festgestellt werden.

Trotz fehlender signifikanter biologischer Veränderung durch die Intervention Sport zeigen die signifikanten Verbesserungen der Psychopathologie, dass körperliche Aktivität sowohl zu einer Symptomreduktion bei Depression als auch bei somatoformer Störung führt. Am meisten profitierten Frauen der Gruppe SFD von der Intervention Sport.

Bei MD bestätigt unser Ergebnis Befunde, die Sport als ebenso effektiv wie eine Therapie mit Antidepressiva ansehen. Im Gegensatz dazu zeigte sich jedoch nur in der

Kontrollgruppe die erwartete Verschlechterung des affektiven Befindens durch die Intervention Ruhe.

Bei der Analyse von Korrelationen konnten bei den Parametern des Kynurenin- und Serotoninstoffwechsels, sowie bei den Zytokinen keine über alle Messzeitpunkte persistierenden relevanten Korrelationen mit BDI, SOMS-7 und SCL-90 nachgewiesen werden.

#### SCHLUSSFOLGERUNG:

Unsere Studie konnte konkordant zu Vorbefunden zeigen, dass sich körperliche Aktivität nicht nur in der gesunden Allgemeinbevölkerung, sondern auch bei psychiatrischen Erkrankungen, unabhängig von der Intensität, positiv auf das mentale Befinden auswirkt.

Aus diesem Grund ist unser Studienergebnis, dass insbesondere bei SFD schon kurzes (7 Tage) moderates körperliches Training zu einer deutlichen Symptomlinderung, sowie einer signifikanten Stimmungsverbesserung führt, da die Patienten so leichter zu Sport motiviert werden können.

Aufgrund dessen sollte körperliche Aktivität sowohl als therapeutische, als auch als präventive Therapiestrategie bei psychischen Erkrankungen wie MD und SFD verstärkt eingesetzt werden. Ein erster Schritt ist das kürzlich eingeführte, ärztlich zu verordnende Rezept für Bewegung. Ein weiterer Punkt der für diese Therapieoption spricht ist die leichte, kostengünstige und individuell

variable Durchführbarkeit, sowie die geringe Nebenwirkungsrate. Dies ist auch relevant, da ca. 30% der Patienten mit Depression nicht auf die bisher verfügbaren Antidepressiva ansprechen, und auch bei SFD nur eingeschränkte Therapieoptionen bestehen.

Teile der Ergebnisse dieser Arbeit sind in der Dissertation von Theresa Stapf (Analyse zellulärer Parameter), sowie in folgenden Studien veröffentlicht: (Euteneuer et al., 2011a, 2011b; Hennings et al., 2012, 2013).

---

#### VERFASSER:

Verena Beatrice Kirnich, geb. Selberdinger

Institut für Laboratoriumsmedizin der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

## Dissertation

### Entwicklung, Validierung und Anwendung einer HPLC-MS/MS-Methode zur quantitativen Bestimmung von Tryptophan und seinen Metaboliten

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie (Dr. rer. biol. hum.)

Aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, Direktor: Professor Dr. med. Daniel Teupser  
vorgelegt von Gregor Alexander Schütze im Jahr 2014

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung, Validierung und Anwendung einer HPLC-MS/MS-Methode zur quantitativen Bestimmung von Tryptophan und seinen Metaboliten. Der Stoffwechsel der proteinogenen, essentiellen Aminosäure Tryptophan umfasst nicht nur den Neurotransmitter Serotonin und das in der Epiphyse gebildete Hormon Melatonin, sondern er schließt auch den Kynurenin Pathway mit ein. Die neurobiochemische Bedeutung dieses Stoffwechselweges wird bereits durch die Tatsache offensichtlich, dass im zentralen Nervensystem mehr als 95% des Tryptophans über diesen Weg metabolisiert werden. Die Intermediate des Kynurenin Pathways spielen eine bedeutende Rolle als Mediatoren zwischen Immun- und Nervensystem. Dabei nehmen sie potenziell Einfluss auf höhere zentralnervöse Funktionen, wie Kognition, Verhalten und Affekt, weshalb sie von herausragender Bedeutung für das Forschungsgebiet der Psychoneuroimmunologie sind.

Auf molekularer Ebene wird Tryptophan im ersten Schritt durch die beiden Schlüsselenzyme Tryptophan-2,3-dioxygenase und Indoleamin-2,3-dioxygenase zu N-Formylkynurenin oxidiert. Durch Kynureninformidase erfolgt eine Metabolisierung von N-Formylkynurenin zu Kynurenin - der Ausgangssubstanz des gleichnamigen Stoffwechselweges. Während die Tryptophan-2,3-dioxygenase ausschließlich Tryptophan oxidiert, ist die Indolamin-2,3-dioxygenase nicht nur für den Abbau von Tryptophan spezifisch, sondern für alle Indolamine, inklusive Serotonin und Melatonin. Die Aktivität der Tryptophan-2,3-dioxygenase wird dabei durch Glucocorticoide, die der Indolamine-2,3-dioxygenase durch bestimmte Zytokine reguliert. Die Indolamin-2,3-dioxygenase spielt ebenfalls eine wichtige Rolle in der Modulation der T-Zell-Toleranz. Des Weiteren werden die Aktivitätszustände diverser Zellen des angeborenen und des erworbenen Immunsystems

durch Metabolite des Kynurenins gesteuert. Einige Bestandteile des Kynurenin Pathways besitzen neuroprotektive oder neurotoxische Eigenschaften. So ist beispielsweise die neuroprotektive Kynureninsäure der bisher einzige bekannte endogene Antagonist des NMDA-Rezeptors und zusätzlich ein nicht-kompetitiver Antagonist des  $\alpha 7$ -nikotinischen Acetylcholinrezeptors. Dieser Substanz steht der alternative Kynurenin-Metabolit, das exzitotoxische Neurotoxin Chinolinsäure gegenüber, welcher ein Agonist des NMDA-Rezeptors ist.

Bei Untersuchungen zum Tryptophanstoffwechsel ist es daher von entscheidender Bedeutung nicht nur einzelne Substanzen, sondern die Gesamtheit der Metabolite zu quantifizieren. Nur so kann die Balance zwischen neuroprotektiven und neurodegenerativen Substanzen, aber auch die Balance zwischen inhibierenden und aktivierenden Mediatoren des Immun- und Nervensystems dargestellt werden. In klinischen Studien können so Dysbalancen mit der Pathogenese einzelner Erkrankungen assoziiert werden, wodurch die Möglichkeit besteht, dass Biomarker zur frühzeitigen Diagnose identifiziert und neue Therapieansätze postuliert werden können.

In dieser Arbeit wird eine neue HPLC-MS/MS-Methode vorgestellt, mit der eine bisher unerreichte Vielfalt an Tryptophan-Metaboliten quantifiziert werden kann. Die

Probenvorbereitung ist eine einfache und kosteneffiziente Proteinfällung in zwei Stufen, wobei unterschiedliche Matrices, wie beispielsweise Serum oder Liquor cerebrospinalis, als Probenmaterial verwendet werden können. Um Analyte mit sehr niedrigen physiologischen Konzentrationen zu detektieren, wurde für diese eine Derivatisierung entwickelt. Die Methode benötigt ein sehr geringes Probenvolumen, ist durch die Verwendung der HPLC-MS/MS-Technologie äußerst sensitiv und spezifisch und umfasst alle bedeutenden Metabolite des Tryptophanstoffwechsels mit nur einer Probenvorbereitung. Die Robustheit wurde in einer ausführlichen Validierung bestätigt. Dabei wurden auch die analytischen Grenzwerte und Kennzahlen ermittelt, sowie die Stabilität der Proben untersucht. In Versuchen zu präanalytischen Einflüssen wurde festgestellt, dass unterschiedliche Zeitpunkte der Blutentnahme, unterschiedliche Blutentnahmesysteme und die Nahrungsaufnahme zu gravierenden Änderungen der Konzentrationen der Analyte führen. So führt die Verwendung unterschiedlicher Blutentnahmesysteme beispielsweise bei der Quantifizierung des Metaboliten Picolinsäure zu Ergebnissen, die sich um bis zu 60% unterscheiden. Es wurde nachgewiesen, dass es postprandial zu starken interindividuell unterschiedlichen Änderungen der Konzentrationen einzelner Intermediate kommt. Dabei verhalten sich die freien und proteingebundenen Metabolite

ebenfalls unterschiedlich. Deshalb muss für Studien eine normierte Probengewinnung mit möglichst exakten Bedingungen eingeführt werden. Auch konnte gezeigt werden, dass die Metabolisierung des Tryptophans in vivo einer circadianen Rhythmik unterliegt. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurden in einem in vitro Experiment tageszeitabhängige Schwankungen nachgewiesen und der Einfluss einer LPS-Stimulation auf den Kynurenin Pathway untersucht.

Durch den Einsatz dieser neuen HPLC-MS/MS-Methode besteht die Möglichkeit, die funktionellen Zusammenhänge zwischen Intermediaten des Kynurenin Pathways und diversen immunologischen, neurochemischen und anderen pathophysiologischen Vorgängen zu untersuchen. In der Literatur gibt es eine Vielzahl an Hinweisen darauf, dass der Tryptophanstoffwechsel an der Pathogenese unterschiedlichster Erkrankungen beteiligt ist. Jedoch bedarf es der genauen Klärung der Zusammenhänge und der Möglichkeit, die Gesamtheit einer potentiellen Störung des Tryptophanstoffwechsels zu erfassen. So sind im Bereich psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen beispielsweise Schizophrenie, Alzheimer-Krankheit, Chorea Huntington und Epilepsie zu nennen. Hier wurden in publizierten Studien häufig nur einzelne Metabolite quantifiziert und isoliert betrachtet. Darüber hinaus konnten unterschiedliche Arbeitsgruppen zeigen, dass eine Aktivierung des Kynurenin Pathways auch bei

der Pathogenese von Tumoren beteiligt ist, weshalb auch hier die von uns entwickelte Methode für weitere Studien von großem Nutzen ist.

VERFASSER:

---

Gregor Alexander Schütze

Institut für Laboratoriumsmedizin der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

## Dissertation

### Entwicklung und Prüfung eines LC-ESI/MS/TOF-Verfahrens für die toxikologische Analytik im Akutkrankenhaus

Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München, Direktor: Prof. Dr. med. Daniel Teupser

und dem Department für Klinische Chemie, Städtisches Klinikum München GmbH, Medizet, Leiter: Prof. Dr. med. Walter Hofmann

vorgelegt von Birgit Henschel aus München 2013

#### 1. ZUSAMMENFASSUNG

Das Gebiet der Arzneimitteltherapie ist geprägt durch seine stetige Weiterentwicklung. Für die Überwachung des Arzneimittelspiegels (Therapeutisches Drug Monitoring) sowie den Nachweis der missbräuchlichen Anwendung psychoaktiver Substanzen ist es deshalb erforderlich, neue Therapeutika rasch nachweisen zu können. Auch auf dem Gebiet der reinen Missbrauchssubstanzen kommt es seit einigen Jahren zu einem immer rascheren Wechsel der verfügbaren Substanzen. Die Herausforderung für Kliniklabore besteht somit darin, ein immer breiter werdendes Spektrum an Substanzen möglichst schnell nachweisen zu können, um eine optimale Patientenversorgung zu gewährleisten. Bis vor wenigen Jahren lag dabei der Fokus auf der Gaschromatographie-Massenspektrometrie

(GC-MS). Dieses Verfahren wird jedoch zunehmend von der Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) abgelöst. Unter den verschiedenen MS-Analysatoren, die mit der LC gekoppelt werden können, bietet der Time-of-flight-Analysator (TOF) den Vorteil, die exakte monoisotopische Molekülmasse aller erzeugten Ionen zu bestimmen, was die Identifizierung auch unbekannter Substanzen ermöglicht. Die zusätzliche Weiterentwicklung der Chromatographie von der High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) hin zur Ultra-Performance-Liquid-Chromatographie™ (UPLC) ermöglicht durch eine höhere Effizienz der Trennung kürzere Analysenzeiten. Somit vereint die Kombination der UPLC mit der MS/TOF wesentliche Vorteile für die klinische Analytik.

Ziel dieser Arbeit war es, den analytischen Nutzen eines UPLC-MS/TOF Systems im Krankenhauslabor für den qualitativen Nachweis toxikologisch relevanter Substanzen (‘systematische toxikologische Analytik’, STA) und den quantitativen Nachweis von Pharmaka (‘Therapeutisches Drug Monitoring’, TDM) zu etablieren. Für beide Anwendungsgebiete wurde in einem ersten Schritt die MS-Detektion optimiert, um die Robustheit und Empfindlichkeit des Systems zu gewährleisten. Für die MS-Detektion wurden die Massenspektren der Mutterionen und durch eine gezielte In-Source-Fragmentierung das dazugehörige Fragmentspektrum erzeugt. In einem zweiten Schritt wurden die Probenvorbereitung und die chromatographische Trennung entsprechend den Fragestellungen angepasst.

Für den qualitativen Substanznachweis im Rahmen der STA wurde mittels UPLC-MS/TOF eine Spektrendatenbank toxikologisch relevanter Reinsubstanzen erstellt, die das jeweilige Spektrum des Mutterions sowie das gesamte zugehörige Fragmentspektrum enthält. Mit steigender Anzahl von Substanzen, die im Rahmen der Arbeit hinterlegt wurden (insg.  $n = 609$ ), stieg der Datenumfang jedoch soweit, dass die verfügbare Rechenleistung für eine rasche Auswertung im Routinebetrieb nicht mehr ausreichend war. Deshalb wurde zusätzlich eine weitere Datenbank (‘Targeted Datenbank’) etabliert, die nur ausgewählte Parameter der Spektrendatenbank wie den Substanznamen, die

Retentionszeit, die Masse des Mutterions und eines spezifischen Fragments beinhaltet. Um die Praktikabilität dieser ‘Targeted Datenbank’ in der Routine zu ermitteln, wurden 330 authentische Urinproben untersucht. Die Richtigkeit der erhaltenen Ergebnisse wurde zunächst durch den Vergleich mit den Einträgen, die in der Spektrendatenbank hinterlegt sind, überprüft; die Ergebnisse zeigten 86.5% Übereinstimmung nach Auswertung mit beiden Datenbanken. Falsch-positive Ergebnisse der ‘Targeted Datenbank’ waren hauptsächlich durch zu hohe Konzentrationen einzelner Substanzen in der Probe bedingt. Der anschließende Vergleich der richtig-positiven Ergebnisse der UPLC-MS/TOF mit den Ergebnissen des Standard-GC-MS-Verfahrens zeigt insgesamt eine Übereinstimmung von 60%, wobei durch das UPLC-MS/TOF System jedoch auch Substanzen nachgewiesen werden konnten, die mittels GC-MS nicht erfasst werden. Die UPLC-MS/TOF Screening-Methode wurde abschließend nach den Vorschriften und Richtlinien der Bundesärztekammer (RILIBÄK) überprüft. Seit 2011 werden durch die Teilnahme an externen Ringversuchen die Anforderungen an labormedizinische Untersuchungen mittels der UPLC-MS/TOF erfüllt.

Um die Eignung einer automatisierten Probenvorbereitung für das Screening mittels UPLC-MS/TOF zu erproben, wurden 30 Proben sowohl mit der bisher für das Screening etablierten Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) als auch mit einer automatisierten

Festphasen-Extraktion (MEPS) aufgearbeitet und analysiert. Die Screeningergebnisse zeigten eine sehr gute Übereinstimmung von 95%, eine Automatisierung der Probenvorbereitung erscheint somit möglich. Die Vorteile liegen vor allem in einer Reduzierung der Fehler, einer Verkürzung der Analysenzeiten und somit insgesamt in einer Senkung der Kosten. Ob der Einsatz von MEPS alle erwarteten Vorteile erfüllen wird, muss jedoch erst noch durch Versuche mit einer größeren Anzahl authentischer Proben gezeigt werden.

Um die Verwendung der UPLC-MS/TOF im Rahmen des TDM zu überprüfen, wurden exemplarisch Methoden für die Quantifizierung von Coffein bei Neugeborenen, Lidocain bei chronischen Schmerzpatienten sowie für die Antiepileptika 10-OH-Carbazepin, Lamotrigin, Levetiracetam und Gabapentin entwickelt. Als Probenvorbereitung erwies sich eine einfache Proteinpräzipitation als ausreichend. Die erstellten Analysemethoden wurden nach den Richtlinien der GTFCh bezüglich Linearität, Genauigkeit und Stabilität validiert und somit die Eignung für die klinische Diagnostik nachgewiesen. Als weitere Substanz wurde Pregabalin für das TDM mittels UPLC-MS/TOF aufgenommen. Diese Substanz, die auch im Drogenentzug verwendet wird, steht seit 2 Jahren selbst im Verdacht Abhängigkeiten hervorzurufen. Für den Nachweis klinisch relevanter Konzentrationen in Urin und Serum wurden verschiedene Extraktionsmethoden getestet. Eine einfache Proteinpräzipitation erwies sich für

diese Substanz als nicht ausreichend, eine Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) als zu zeit- und arbeitsintensiv. Mittels automatisierter Festphasenextraktion (MEPS) konnte Pregabalin hingegen in geringer Probenmenge schnell und einfach nachgewiesen werden.

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass das verwendete UPLC-MS/TOF-System für die gezielte Suchanalytik im Rahmen der systematischen toxikologischen Analyse (STA) sowie für die Quantifizierung im Therapeutischen Drug Monitoring (TDM) geeignet ist. Um für die STA das etablierte GC-MS Screening Verfahren durch das UPLC-MS/TOF Screening Verfahren ersetzen zu können, müssten jedoch Software-Verbesserungen wie z. B. die Verknüpfung der 'Targeted Datenbank' mit der Spektrendatenbank ermöglicht werden. Hinweise auf die missbräuchlichen Verwendung von neuen, noch unbekannt Substanzen wie z. B. Designerdrogen lassen sich hingegen mittels UPLC-MS/TOF System einfach und schnell erlangen. Für das TDM kann das System für eine schnelle und einfache Etablierung von Quantifizierungsmethoden genutzt werden, da in den meisten Fällen eine einfache Proteinpräzipitation für die Probenvorbereitung als ausreichend erwiesen hat.

VERFASSER:

---

Birgit Henschel

Institut für Laboratoriumsmedizin der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

## Dr. Lutz Schwettmann Präsident der NSMB (Norwegische Gesellschaft für Medizinische Biochemie)

Am 02. Juni 2015 wurde das langjährige DGKL-Mitglied Dr. Lutz Schwettmann auf der Jahrestagung in Kristiansand zum neuen Präsidenten der Norwegischen Gesellschaft für Medizinische Biochemie (Norsk Selskap for Medisinsk Biokjemi, NSMB) gewählt.

Im Oktober 2008 wechselte Dr. Lutz Schwettmann vom Institut für Klinische Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover, an dem er zuletzt unter Prof. Dr. Korbinian Brand seine Weiterbildung zum Klinischen Chemiker absolvierte, an das Klinikum in Ålesund in Norwegen. Dort übernahm er die Position des Leiters des medizinisch-diagnostischen Laboratoriums (55 Mitarbeiter, 2,5 Mio Analysen/Jahr) analog zur Position eines ärztlichen Direktors. Dieses war zum damaligen Zeitpunkt für Norwegen ein absolutes Novum, zumal es dort keine offizielle Weiterbildung für Naturwissenschaftler zum Klinischen Chemiker gab. Aufgrund seiner von der DGKL im Jahr 2007 ausgestellten Urkunde zur bestandenen Prüfung zum Klinischen Chemiker, seiner EC4-Registrierung als European Specialist for Laboratory Medicine (EuSpLM) sowie den vorgelegten Gegenstandskatalogen zur Weiterbildung konnte er nach erfolgter Dokumentenprüfung gemäß den Rahmenbedingungen im norwegischen Gesundheitssystem im Klinikum als



Laborleiter des medizinisch-diagnostischen Labors tätig werden. Im Jahr 2009 wurde er sogleich in die norwegische Fachgesellschaft aufgenommen, die er zwischenzeitlich bereits in verschiedenen Ämtern als Sekretär und Vizepräsident unterstützte. Sein kontinuierliches Engagement wurde nun durch die aktuelle Präsidentschaft gekrönt.

Als Klinischer Chemiker freue ich mich ganz besonders über diesen besonderen Karriereweg und wünsche meinem ehemaligen Kollegen Dr. Lutz Schwettmann alles Gute für die nun anstehende Amtszeit.

VERFASSER:

---

Prof. Dr. Ralf Lichtinghagen

Medizinische Hochschule Hannover, Zentrum Laboratoriumsmedizin, Institut für Klinische Chemie, Carl-Neuberg-Straße 1, 30623 Hannover

## Networking der Gesundheitspolitik – 8.000 Teilnehmer beim 18. Hauptstadtkongress

Zum 18. Mal fand in diesem Jahr der Hauptstadtkongress statt, das zweite Mal im CityCube auf dem Messegelände in Berlin. Insgesamt nahmen etwa 8.000 Gesundheitspolitiker, Vertreter aus Pflege und Medizin sowie Manager aus Kliniken, Gesundheitsunternehmen und Verbänden an der Veranstaltung teil. Drei Tage lang wurden 180 Einzelveranstaltungen, aufgeteilt auf drei Stränge, angeboten.

Der Hauptstadtkongress bietet zum einen die Möglichkeit, sich über aktuelle Gesetzesvorhaben und Themen aus den Bereichen Krankenhaus, Pflege und Ärzteschaft zu informieren, außerdem kann vor Ort aktives Networking betrieben werden.

In dem Strang „Krankenhaus Klinik Rehabilitation“ diskutierten die Teilnehmer Themen bezüglich der steigenden Nachfrage nach Gesundheitsleistung gegenüber den begrenzten finanziellen Mitteln. Wie kann die Qualität verbessert werden und wie ist diese objektiv messbar. Diese Themen sind gerade im Hinblick auf das neue Krankenhausstrukturgesetz von zentraler Bedeutung.

Beim „Deutschen Pflegekongress“ wurden die Auswirkungen des ersten Pflegegesetzes analysiert. Zu den wichtigsten Themen gehörten hier die Nachwuchssicherung und Fachkräftesicherung, in



diesem Zusammenhang auch die Akademisierung des Pflegeberufes mit Blick auf Erfahrungen aus dem Ausland.

Das „Deutsche Ärzteforum“ bot Wissenschaftlern, Medizinern, Apothekern, Gesundheitsunternehmern, Politikern sowie Vertretern von Verbänden und Institutionen die Möglichkeit, fächerübergreifende aktuelle Themen der Gesundheitspolitik zu diskutieren. Dazu gehörten „E-Health und Big Data wirklich – und was haben die Patienten davon?“, „Chronische Erkrankungen: Diagnostik, Therapie und Management“ oder „Laienreanimation in Deutschland“ bis hin zu zunehmenden Aspekten wie „Simulationsmedizin – Wirkung ohne Nebenwirkung“ und „Moderne Organisationsformen ärztlicher Tätigkeit“.

Die Eröffnungsveranstaltung widmete sich, aus aktuellem Anlass, der Digitalisierung der Medizin. In seiner Eröffnungsrede versprach

Bundesgesundheitsminister Hermann Gröhe daher auch, bei der Umsetzung von e-Health-Projekten „Dampf zu machen“.

Einen hohen Unterhaltungswert hatte der Vortrag des Mathematikprofessors Gunter Dueck. Unter anderem verglich er die Innovationen bzw. die Scheu im Bezug auf die Digitalisierung mit der Autoindustrie. Selbstfahrende Autos werden in Zukunft die Automobilbranche nachhaltig beeinflussen. Ebenso wird ein mündiger Patient, der während des Wartens auf einen Facharzttermin die Zeit mit googeln nach der Krankheit nutzt, einen ganz anderen Wissensstand haben, als es früher der Fall gewesen ist.

In einer Diskussionsrunde zum Thema „Gesundheitspolitik der 18. Legislaturperiode, Rückblick und Perspektiven“ wurden Potenziale und Risiken der neuen Gesundheitsgesetze diskutiert. Moderiert von dem Kongresspräsidenten Ulf Fink bestimmte vor allem Jens Spahn (CDU/CSU) mit seinen Wortbeiträgen die Diskussionsrunde. Weitere Teilnehmer waren Harald Weinberg (Die Linke) und Maria Klein-Schmeink (Bündnis 90/ Die Grünen). Bei dem Finanzgesetz gibt es laut Jens Spahn Gegenwind von den Kassen, da sie sich gegen die Preistransparenz wehren. Von medizinischem Interesse könnte hier der Zentrenzuschlag in der Hochschulmedizin, der die fächerübergreifende Diagnostik und Behandlung fördert, sein.

Einig waren sich alle Redner, dass das e-Health-Gesetz weiter verbessert werden muss. Vor allem der Ausbau sicherer Datenübertragungssysteme wurde als bedeutend gewertet. Jens Spahn sprach sich für eine Landarztquote aus, die bereits bei Studenten durch finanzielle Anreize attraktiv gemacht werden soll. Daraufhin meldete sich der Vertreter der Medizinstudentenvertretung zu Wort, der Zweifel äußerte, ob sich 18-jährige Studenten festlegen können, wo sie sich später niederlassen wollen. Diese Anmerkung ignorierte Spahn und nutzte vielmehr die Chance, um sich für eine Studiengebühr im Medizinstudium einzusetzen.

Bei der Veranstaltung „Personalisierte Medizin - Gut für den Arzt und den Patienten?“ hielten Prof. Dr. Herbert Rebscher von der DAK Gesundheit, Dr. Alexander Schachinger von EPatient RSD GmbH und Dr. Martin Walger vom Verband der Diagnostica-Industrie e.V. Vorträge und es folgte eine kurze Diskussionsrunde.

In ihrem Impulsvortrag hob Jessica Beyrer von der Deutschen Apotheker- und Ärztekammer hervor, wie die personalisierte Medizin bereits Wirklichkeit geworden ist. Als Beispiel wählte sie Angelina Jolie und ihrer Mastektomie als Konsequenz der Ergebnisse aus der Molekularen Diagnostik. Als wichtige Schlagwörter nannte sie die Frage nach zukünftigen Allianzen, vor allem in der Informationstechnologie, dem Umgang mit Big Data und die

Frage, wem die Daten am Schluss gehören.

Etwas kontrovers betrachtete Prof. Rebscher von der DAK Gesundheit das Thema personalisierte Medizin. In seinen Augen sei jeder Befund, den ein Patient bei seinem Arzt erhält, bereits personalisiert. Chancen sehe er in den neuen Techniken der Differentialdiagnostik, welche aus seiner Sicht eine Verbesserung der Stratifizierung von Medizin erlauben. Als Beispiel für bereits bestehende Felder nannte er das Neugeborenen-Screening, Vorsorgeuntersuchungen von Brust- und Eierstockkrebs sowie Hormonrezeptorentests bei Brustkrebs. Aus seiner Sicht entstünden hier allerdings Wahrscheinlichkeiten und keine Gewissheit, was oft verwechselt werde. In Bezug auf die Finanzierung des Systems bemängelte er die fehlenden klinischen Studien sowie ein Nachweis der Wirksamkeit von Tests. Er sprach evidenzbasierter Medizin zu und forderte, dass diese in den EBM aufgenommen werden kann oder die Forschung durch Innovationsfonds gefördert werden sollte.

Dr. Martin Walger vom VDGH betonte, dass das Labor aufgrund der 3% GKV-Gesamtausgabe kein Kostentreiber sei, sondern vielmehr einen bedeutenden Innovations-treiber darstelle. Hier entstehe ein Dilemma, wie bereits vom Vorredner skizziert, in dem Kreislauf der Produktzulassung, der Nutzenbewertung durch die Selbstverwaltung und der Erstattung. Bei der Bewertung



labordiagnostischer Innovationen gebe es zwei zuständige Institutionen (Gemeinsamer Bundesausschuss (GBA) und den Bewertungsausschuss von KBV/GKV-Spitzenverband). Die Dopplung führe zu erheblichen Problemen, da die Zuständigkeiten für Außenstehende schwer nachzuvollziehen seien. Dazu hätten beide Institutionen unterschiedliche Trägerorganisationen, Vertreter, Methodenbewertungen, Beratungsfristen und Transparenz. Folglich unterscheiden sich die Anforderungen erheblich. Bevor also Produkte eingereicht werden können bzw. Wirksamkeitsstudien erstellt werden, müsse klar sein, an wen der Antrag gehe. Gerade für Diagnostika gelte sehr oft, dass die Zulassung nicht mit der Erstattungsfähigkeit korreliere. Als Beispiel führte Dr. Walger die Schwierigkeiten bei der Erstattungsfähigkeit von Companion Diagnostics an. Erfahrungen aus der Vergangenheit hätten gezeigt, wie lange sich Nutzenbewertungsmaßnahmen und die Aufnahme in den GKV-Katalog hinziehen können. Bei dem HPV Test startete das Verfahren 2003 und werde frühestens 2016 in die

Regelversorgung eingeführt. Der VDPGH habe 2009 mehrere Vorschläge von Laborinnovationen zur Aufnahme in den EBM in den Bewertungsausschuss eingereicht. Von diesen Vorschlägen wurden bisher zwei abgelehnt, die übrigen seien noch nicht entschieden. Als positives Signal wertete Dr. Walger die neuen Fristenregelungen im kommenden GKV-Versorgungsstärkungsgesetz, bei denen sich sowohl der GBA als auch der Bewertungsausschuss stärker an eine fristgerechte Bewertung halten müsse und diese zum Teil auch verkürzt werden.

In dem Vortrag von Dr. Alexander Schachinger von EPatient RSD GmbH wies dieser auf die Partizipation des Patienten in einer sich digitalisierenden Gesellschaft hin. Über internet-basierte Plattformen informierten sich die Patienten heutzutage und tauschten Erfahrungen aus. Das Vertrauen gelte aber immer noch in erster Linie dem Arzt. Umfragen zufolge erhielt der Patient App-Empfehlungen am liebsten direkt vom Arzt. Die Nachfrage nach Innovationen sah Dr. Schachinger gemäß der „Digital Native“ Generation bei der Jugend. Diese recherchiere aktiv vor und nach einer Diagnose nach möglichen Therapieformen und bilde sich im Internet weiter.

In der Abschlussdiskussion herrschte Einstimmigkeit darüber, dass bei Zulassungsverfahren klare Qualitäts- und Sicherheitsstandards nachgewiesen werden müssen.

Der Arzt sollte nicht nur Daten, sondern entsprechende Analysen, vor allem im Bereich der Molekularen Diagnostik, liefern. Die Treiber der nächsten Jahre werden neben dem Krankenhaus, die IT-Welt und die Krankenkassenversicherer sein. Bei all der Modernität sollte Evidenz, Wirksamkeit und Präzision nicht außen vor gelassen werden. Daher sprachen die Referenten von einer Evolution statt Revolution.

VERFASSER:

---

Dr. Gesa Albert

DGKL Geschäftsstelle Berlin

## Laborleitertreffen Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen-Anhalt 2015

Das 23. Laborleitertreffen fand auch in diesem Jahr in Potsdam statt, wobei die entsprechenden Bundesländer durch Frau Professor Dr. Westphal (Dessau), Herrn Dr. T. Ansorge (Magdeburg), Herrn Prof. Dr. F. Bühling (Cottbus), Herrn Dr. L. Briedigkeit (Schwerin) sowie Herrn Dr. K.-G. Heinze (Berlin) repräsentiert wurden.

Den ersten Tag moderierten Prof. Dr. Bühling sowie Dr. Briedigkeit, den zweiten übernahmen Dr. Ansorge und Dr. Heinze; insgesamt wurde in acht Vorträgen ein sehr breiter Bogen von berufspolitischen Themen über Fragen des Laboralltags bis „Was kommen wird ....“ geschlagen.

Die LÄK Brandenburg honorierte die Veranstaltung mit acht Fortbildungspunkten

Dr. Bobrowski (Berufsverband Deutscher Laborärzte e. V., Lübeck) referierte über die „Berufspolitische Entwicklung in der Laboratoriumsmedizin“. Immerhin seien medizinische Themen mit starkem Bezug zur Labordiagnostik selbst beim G7-Gipfel angekommen: So wurde u. a. die Problematik multiresistenter Keime und nosokomialer Infektionen zur „Chefsache“ erklärt. Trotzdem leide die Laboratoriumsmedizin unter oftmals schlechter Darstellung in der Presse. Die Laboratoriumsmedizin habe einen

klaren Versorgungsauftrag und „wir arbeiten gerne nur nicht auf Basis einer Flatrate“. Der oft gemachte Vorwurf, wir seien schuld an der Mengenausweitung unserer Leistungen sei unberechtigt: Verhindert werden müsse die Selbstzuweisung und Durchführung in „Schuhkastenlabors“ vor Ort. Der, der anfordere, dürfe die Leistungen nicht selbst berechnen. Zusätzlich werde das Problem durch die Großkettenbildung und Oligopolisierung im Laborbereich verschärft. In der Diskussion wurde auf das Problem des selbstgemachten, „internen Preiskriegs“ eingegangen, bei dem Großlabore zu untragbar defizitären Konditionen mit Klinikketten um Vertragsabschlüsse buhlen. Das bleibe natürlich auch KVen und Politikern nicht unbekannt. Die sog. Grundversorgung müsse über die tatsächlich notwendigen Leistungen definiert werden – nicht über anfordernde Arztgruppen. Versuchen, aktuelle Entwicklungen in unserem sich schnell modernisierenden Fach umzusetzen bzw. in den Abrechnungskatalogen zu etablieren, werden auch die „beschleunigten“ HTA-Verfahren nicht gerecht. Die Laboratoriumsmedizin sei selbst gefordert, das Patienteninteresse zu wahren, Innovation und Diagnostikoptimierung in dem Sinne zu betreiben, dass tatsächlicher Nutzen vor technischer Machbarkeit stehe.

Treten wir selbst mit dem Patienten in Kontakt oder etabliert die Wichtigkeit unseres Tuns auch auf höchsten politischen Ebenen, könne das die Zukunft unseres Faches letztlich im Patienteninteresse und der Gesundheitsökonomie sichern. Es bleibe zu prüfen, in wieweit die Laboratoriumsmedizin im Rahmen der ambulanten spezialfachärztlichen Versorgung ihren Platz findet und die entsprechenden Leistungen außerhalb vertragsärztlicher Praxisbudgets selbst abgerechnet werden und nicht im weitaus größeren Topf anderer Fachrichtungen versickern.

Das Thema „Drogen und Drogenscreening“ stellte Dr. Haase (HELIOS Kliniken Schwerin, Klinische Toxikologie, Schwerin) vor und gab einen Überblick bezüglich des Vorgehens und spezieller Problematiken. Er fokussierte auf die „konventionellen“ Drogen, da die sich fast täglich erweiternde Gruppe synthetischer bzw. modifizierter Substanzen den Rahmen seines Vortrags sprengen würde. Drogen sind auf das Zentralnervensystem einwirkende Substanzen, welche die synaptische Übertragung im Sinne erregender wie sedierender Einflüsse modifizieren. Die individuelle Gefährlichkeit ist von gering (z. B. Kath-Blätter) bis sehr hoch (Heroin) einzustufen. Neben Schnelltestverfahren, die auch als POCT eingesetzt werden, können im nächsten Schritt „hinweisgebende“, automatisierte Immunoassays eingesetzt werden; beide Verfahren werden als sog. „Gruppenteste“ den letztlich „identifizierenden“,



Dr. T. Ansorge (Magdeburg), Prof. Dr. F. Bühling (Cottbus), Dr. L. Briedigkeit (Schwerin), Prof. Dr. Westphal (Dessau), Dr. K.-G. Heinze (Berlin)

„beweisenden“ Verfahren (HPLC, GC-MS, LC-MS) zur Seite gestellt. Die letzteren Verfahren sind in der Lage, Einzelsubstanzen und Metabolitspektren zu quantifizieren. Manipulationen des Untersuchungsmaterials müssen immer bedacht werden, wobei im Urin die Kreatininbestimmung zur Erkennung von Verdünnungsversuchen das Minimum darstellt. Einige Tenside/Reiniger oder andere Zusätze können in sog. „Verfälschungstestreifen“ nachgewiesen werden bzw. müssen letztlich chromatografisch detektiert werden. In den Gruppentesten können falsch positive Ergebnisse (bspw. Novalgin und Benzodiazepin-Teste) wie auch falsch negative (liegt allerdings oft an der Unkenntnis der Anforderer) Ergebnisse erzielt werden. So werden die sog. „Z-drugs“ nicht in den Benzodiazepin-Gruppen detektiert oder Opioide wie Tramadol, Buprenorphin oder Loperamid werden nicht im Opiat-Immunoassay erkannt. Lassen eine klinische Angaben bei bewusstlosen

Patienten mit potentieller Multiintoxikation im Stich, müssen entsprechend breitere Untersuchungsspektren eingesetzt werden. Der positive Opiatnachweis bei Mohnkuchen bzw. Mohnbrötchenverzehr sei bei entsprechend niedriger Nachweisgrenze des Tests kein „Ammenmärchen“, sondern sollte eher dazu führen, derartige Produkte speziell in Drogen-/Entzugskliniken zu meiden.

Nach einer kurzen Kaffeepause erläuterte Prof. Dr. Kirschfink (Universität Heidelberg, Institut für Immunologie) „Moderne Komplementdiagnostik: Indikationen und analytische Verfahren“. Das Komplementsystem umfasst als Sensorsystem vielfältige Rezeptor-Ligand-Interaktionen und nimmt eine Schlüsselrolle in der angeborenen Immunität ein. Die Aktivierung über den klassischen, den alternativen oder den Lektin-Weg lenkt viele Teile des Immunsystems, rekrutiert Immunzellen, führt zu Opsonisierung und Phagozytose im RES oder zur Zellzerstörung. Überschießende Aktivierung, aber auch das Fehlen einzelner Komplementproteine oder deren Regulatoren (im Plasma oder auch zellständig wie CD55 und CD59), können lebensbedrohliche Folgen haben. So reicht die „Basisdiagnostik“ mit der Bestimmung von C3, C4, C1INH nicht aus, alle relevanten Einzelkomponentenstörungen zu erfassen (z. B. Fehlen von C8). Neuerdings sind Komplementfunktionstests für alle drei Aktivierungswege erhältlich, welche diese Situation verbessern können. Die gezielte

Komplementdiagnostik muss sich am klinischen Bild orientieren; so wird beim atypischen hämolytisch-urämischen Syndrom mit Komplementdefekt die Amplifikationsschleife via C3 „hochgefahren“, bei der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie (PNH) ist die Komplementinaktivierung via CD55 und CD 59 vermindert, was klinisch primär durch eine Hämolyse und/oder thrombembolische Komplikationen auffällig wird. Die PNH hat durch Einführung von Eculizumab eine entscheidende therapeutische Option erfahren. Je nach Indikation sind auch andere Therapeutika wie Compstatin via C3-Blockade oder Ampalizumab via Anti-FD im Einsatz. Die präanalytische Phase ist kritisch bei der Analyse von Komplementkomponenten; idealerweise wird in EDTA-Blut/Plasma untersucht, um unspezifische Aktivierungen zu vermeiden; Plasma sollte bis zur Analyse umgehend tiefgefroren werden und bei der Durchflusszytometrie sind die entsprechenden Vorgaben einzuhalten. Weiter auszubauende Maßnahmen der Qualitätssicherung müssen dem Wunsch nach einer qualitativ hochwertigen Komplementanalytik Rechnung tragen.

Im letzten Vortrag des ersten Tages gab Frau Dr. Huzly (Department für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Institut für Virologie, Freiburg) einen kritischen Vortrag zum Thema „Sinn und Unsinn der serologischen Virusdiagnostik“. Während infektionsserologische Untersuchungen bis in die 90er Jahre, vor der Einführung molekularbiologischer

Teste, als Standard für die Virusdiagnostik galten, hat sich dieses Bild deutlich gewandelt. Einzig in der HIV und Hepatitis B Diagnostik sind ausreichend Daten zur tiefgehenden Evaluation vorhanden. Speziell IgM-Teste werden häufig unkritisch angefordert oder auch interpretiert; so ist hierbei die Zeitspanne nach Infektion, die Spezifität des Tests, das Wissen um evtl. frühere Infektionen, Verläufe und vor allem die Kenntnis (der meist fehlenden) klinischen Angaben wichtig. Mumps wird bspw. durch IgM-Teste nur schlecht detektiert und muss molekularbiologisch getestet werden, bei Röteln liegt auf der anderen Seite der positive prädiktive Wert eines positiven IgMs bei nur ca. 0,01% und muss somit ebenfalls bestätigt werden. Parvovirus B19 liegt häufig in Immunkomplexen vor und wird dann serologisch nicht erfasst. Bei der Gruppe „respiratorischer“ Viren (gilt auch für *Chlamydia pneumoniae*) macht die Serologie keinen Sinn. Enteroviren sind ebenfalls bei entsprechendem Verdacht molekularbiologisch im Stuhl zu erfassen und die geliebte Anforderung „kardiotrope Viren“ ist nicht erfolversprechend - die Referentin hat bei Erwachsenen in 20 Jahren keinen einzigen gesicherten Fall gesehen. Bei Säuglingen und Cocksackie-Viren sieht das anders aus: Hier müssen potentiell lebensbedrohliche Formen ebenfalls durch die Molekularbiologie und nicht durch die Serologie detektiert werden. Besondere Vorsicht sei beim Vergleich verschiedener Testsysteme

gefordert: 30 IU/l bei einer Firma können gut 80 IU/l oder mehr bei einer anderen sein. Somit müssen auch die entsprechenden Grenzwerte für „Immunität vorhanden“ - oder eben nicht - sehr zurückhaltend interpretiert werden. Die Kointerpretation eines hoch positiven EBV-VCA IgMs bei fehlendem IgG oder EBNA1 und auffälligen lymphatischen Zellen im Blutbild (von vermutlich reaktiv bis evtl. blastär/maligne) als akute EBV-Infektion und nicht als akute lymphatische Leukämie ist allerdings durchaus hilfreich. Konkret muss der kritische Umgang mit virusserologischen Testen und die deutliche Reduktion des angebotenen Panels umgesetzt werden.

Mit einer kurzen Einführung eröffnete Dr. Heinze eröffnete mit einer kurzen Einführung den zweiten Tag der Veranstaltung, welcher wie gewohnt verschiedene Themenkreise der Labordiagnostik umfasste.

Das Herangehen an ein Problem der täglichen Praxis „Unklare Leukozytosen bei Erwachsenen und Kindern – Diagnostische Abklärung: Leukämie oder Epiphänomen?“, wurde von Dr. Tiemann (Institut für Hämatopathologie, Hamburg) vorgestellt. Auch in Zeiten der Hochautomatisation mittels Durchflusszytometrie und genetischen Untersuchungsoptionen hat die optische Differenzierung des gefärbten Blutausrichs immer noch ihren festen Platz in der Eingangsdagnostik. Bei „unklaren“ Lymphozytosen helfen natürlich das Alter der Patienten,

das morphologische Erscheinungsbild sowie infektionsserologische Befunde oftmals schon weiter, um reaktive von malignen Veränderungen zu unterscheiden; ebenso ist die durchflusszytometrische Linienzugehörigkeit zu klären. Bei der „klassischen“ B-CLL (Lymphozytenzahl > 5000/ul; klonale Veränderungen und niedrigere Werte sind zunächst als monoklonale B-Zell-Lymphozytose, MBL, zu beschreiben) ist jedoch morphologisch nicht sicher zwischen potentiell malignen Formen (Ausnahme ist z. B. der Übergang in das sog. Richter-Syndrom mit Auftreten immunoblastärer Elemente) und eher gutartig verlaufenden zu unterscheiden. Die Mutation 17 p- stellt den wichtigsten, jedoch prognostisch ungünstigen Marker (ca. 80% Letalität in den fünf Folgejahren) dar; auch die NOTCH1-Mutation mit Aktivierung des NF-kappaB-Signalwegs ist für die Charakterisierung relevant. Bei Erhöhungen in der Granulozytopoese wurde mehrfach auf die basophile Reihe als Marker einer myeloproliferativen Erkrankung hingewiesen, wobei die „magische Grenze“ oft bei 200 Basophile pro ul gesetzt wird. Neben der bcr-abl-Translokation (die Zytogenetik ist hier für Routinezwecke entbehrlich geworden), hat hier die JAK2-Mutation (speziell bei Thrombozytose) ihren (differenzial-)diagnostischen Wert. Bei den problematischeren Formen wie der der atypischen CML oder der CMML ist neben der Monozytose (>1000/ul) die Erfassung der Mutationen in den SRSF2, TET2 und CSF3

Genen relevant. Unklare, persistierende, also nicht z.B. reaktiv nach Operationen, Trauma oder Entzündung auftretende, Thrombozytenerhöhungen (>450 G/l) sind durch die Jak2-, CALR-, MPL- und TET2-Mutationen zu charakterisieren; bei malignen Thrombozythämien werden diese in der vorstehenden Reihenfolge in ca. 50%, 40%, 5% oder 2% gefunden. Die 5q- Mutation geht beim MDS mit Thrombozytenerhöhungen einher. Länger anhaltende, nicht reaktive Polyglobulien sind in den meisten Fällen durch die Darstellung der Jak2-Mutation (incl. Exon 12) als maligne zu klären; die sehr seltenen Formen der sog. hereditären Polyglobulie mit Veränderungen des Epo-Rezeptors bleiben die Ausnahmen. Bzgl. der eosinophilen Granulozyten ist selbst bei Extremwerten immer auf reaktive, allergische/hyperergische Ursachen zu prüfen (Beispiel eines Kindes mit 70% Eosinophilen im Knochenmark bei einer Milbenallergie). Der M. Hodgkin, die Langerhans-Histiozytose oder die systemische Mastozytose mit Eosinophilie und der D816V Mutation sind differenzialdiagnostisch zu klären. Das Labor hat bei primär unklaren Leukozytosen die herausragend wichtige Funktion des Lotsen, damit frühzeitig die richtigen Schritte der Spezialdiagnostik und Therapie eingeleitet werden können.

Im zweiten Vortrag präsentierte Prof. Dr. Dr. Schinzel (Universitätsmedizin Mainz, 2. Medizinische Klinik und Poliklinik) einige Problematiken der Gerinnungsdiagnostik und

Therapie: „Die Prophylaxe reichte nicht aus: Therapie manifester Thrombembolien bei Schwangeren und Tumorpatienten“. Beide Personengruppen repräsentieren Risikokonstellationen für das Auftreten thrombembolischer Komplikationen wie auch von Blutungszwischenfällen. In der Schwangerschaft sind hämodynamische Änderungen (gesteigertes Herzzeitvolumen, erhöhte Herzfrequenz, vermehrtes Blutvolumen, die Reduktion des peripheren Widerstands oder der durch Kompression gestörte venöse Rückstrom) wie auch hämostaseologische Anpassungen mit Zunahme prokoagulatorischer (z. B. Fibrinogen) sowie der Abnahme antikoagulatorischer Faktoren (Protein S) nachweisbar. Ziel dieser primär physiologischen Umstellungen ist die Verminderung eines peripartalen Blutverlustes, was allerdings mit einem erhöhten Thrombembolierisiko erkauft wird (ca. 0,5 bis 2 thrombembolische Komplikationen auf 1000 Schwangerschaften) und somit die Hauptursache der erhöhten mütterlichen Mortalität ist. Während der Schwangerschaft sind die „neuen“ direkten Antikoagulanzen (DOACs), Vitamin K Antagonisten oder auch Fondaparinux nicht zugelassen und aggressive Therapieverfahren wie die mechanische Thrombusentfernung sind Reserveverfahren bei einer vital bedrohlichen Lungenembolie. Somit bleiben Heparine und hier voran die niedermolekularen Heparine ante- wie peripartal- die derzeit verfügbaren Therapieoptionen (immerhin eine 1A-Empfehlung

der ACCP-Guidelines), wobei die Antikoagulationsdauer nicht zu kurz (mindestens drei Monate) und lückenlos sein sollte; postpartal können Vitamin K Antagonisten eingesetzt werden. Tumorpatienten besitzen je nach Tumorentität, Stadium der Erkrankung, Alter und Geschlecht des Patienten ein erhöhtes Thrombembolierisiko (besonders hoch bei Hirn- sowie Pankreastumoren). Gleichzeitig besteht aber auch ein oft stark gesteigertes Blutungsrisiko durch beeinträchtigte Synthese bei hepatischen Metastasen, Chemotherapie, niedrige Thrombozytenzahlen, beeinträchtigte Nierenfunktion und evtl. häufig notwendige Punktionen oder invasive Verfahren. Leitliniengerecht werden niedermolekulare Heparine für die ersten drei Monate eingesetzt, die, falls vertretbar, dann durch Vitamin K-Antagonisten ersetzt werden können. Bei weiter bestehender Tumorerkrankung wird die Therapiedauer auch nach Abwägung der individuellen Nutzen-Risiko-Relation ausgedehnt. DOACs sind zwar in ersten Therapiestudien erfolgreich, aber nicht explizit zugelassen und können künftig durch ihre kurze Halbwertszeit speziell bei häufig durchgeführten Punktionen oder Eingriffen durchaus Vorteile gegenüber den Vitamin K-Antagonisten aufweisen. Inwieweit ein echter „Antitumoreffekt“ der jeweiligen Antikoagulanzen eine Rolle spielt, ist immer noch Gegenstand der Diskussion.

Prof. Dr. Krause (Immanuel Krankenhaus Berlin, Klinik für Innere Medizin, Abteilung

Rheumatologie und Klinische Immunologie) gab einen auch für „Nicht-Rheumatologen“ verständlichen und vor allem für die praktische Diagnostik hilfreichen Überblick bezüglich der „Differenzialdiagnostik schmerzender Gelenkbeteiligungen bei verschiedenen Grunderkrankungen mit Hilfe des Labors“. Die Unterscheidung „entzündlich“ vs. „nicht-entzündlich“ stellt eine erste Grobeinteilung dar, die immer noch neben der Klinik mittels der BSG sowie des CRP-Werts getroffen wird. Letzter ist aber bei systemischen Vaskulitiden oder bspw. der Arthritis psoriatica nicht zuverlässig erhöht; ebenso ist er - im Gegensatz zur BSG - kein Marker für die Aktivität eines systemischen Lupus erythematoses (LE). Weiterhin erfolgt in der Routine die Einteilung in Monoarthritis, Oligoarthritis sowie Polyarthritis. Erstere sind meist septische oder sog. Kristallarthritiden, die leicht mittels der einfachen Synoviaanalyse (Aussehen, Zellzahl/-art und Kristallnachweis, evtl. folgende Mikrobiologie) geklärt werden können. Die Oligoarthritis werden oft durch sog. HLA B27-assoziierte Arthritiden, Spondylarthritiden bei M. Bechterew oder Psoriasis, mit regelhaftem Befall zumindest der unteren Extremität hervorgerufen. Er wies ausdrücklich auf die schlechten positiven prädiktiven Werte der HLA B27-Bestimmung hin: Gut 90% der Positiven sind nicht krank; eine Darstellung von HLA B27-Suballelen ist nicht sinnvoll. Reaktiv können Oligoarthritis auch

im Rahmen von Borreliosen auftreten (Lyme-Arthritis); hier aber besondere Vorsicht bei überflüssigen bzw. überzogenen serologischen Testungen/Bewertungen; vor allem ein im Krankheitsverlauf negatives IgG ist gut interpretierbar. Neue Leitlinien zur Borreliosedagnostik sind auf dem Weg. Bei den Polyarthritiden gilt die rheumatoide Arthritis trotz deutlich verbesserter Diagnose- und Therapieoptionen immer noch als „Polyarthritis mit schlechterer Prognose“; eine Verlaufsbeurteilung anhand der Rheumafaktorkonzentrationen oder Höhe der Anti-CCP-Werte ist nicht möglich. Die schlechte Prognose gilt vor allem im Vergleich mit den reaktiven Polyarthritiden auf virale Infekte (wichtig: Hepatitis B und C, Parvo B19, evtl. Röteln. Vieles andere ist eher „exotisch“: Viren der Sindbis-Gruppe, Chikungunya). Bzgl. des LE ist es zu einer deutlichen Aufwertung des Labors in den revidierten ACR-Kriterien gekommen. Prof. Krause wies explizit darauf hin, dass gewisse Abweichungen zu seinen Ausführungen bei der Bewertung der entsprechenden Vorgehensweisen im Kindesalter gemacht werden müssen.

Mit dem letzten Vortrag „Wir sind nicht allein: Das Mikrobiom bei Gesundheit und Krankheit“ führte uns Prof. Dr. Dr. Gessner (Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Regensburg) dann in das enge Zusammenspiel zwischen Mensch und Mikroorganismen ein. Er behandelte im Überblick ein Thema, das noch nicht die praxisrelevante Ebene erreicht

hat. Das Mikrobiom umfasst nicht nur Bakterien, sondern auch Viren, Pilze, Einzeller/Archaen. Momentan würden ihm gerade zumindest zehnmal mehr bakterielle Zellen als humane Zellen zuhören und der Ausdruck „Darmflora“ sei mehr als unzutreffend, da es sich hierbei um keine Pflanzen handle. Das Darmmikrobiom kann man als „das vergessene Organ“ bezeichnen, welches immerhin ca. 1,5 kg Masse und 30% des Fäkalvolumens stellt. Viele Erkrankungen (bspw. der M. Crohn, die MS, maligne Tumore, Diabetes mellitus, aber auch Ausprägungen wie Fettleibigkeit) sind mit klaren Verschiebungen des Mikrobioms gekennzeichnet. Kurz: „Die Welle rollt“ – und man wird schauen müssen, was sich als routinefähig und sinnvoll herausstellen wird. Firmen haben den potentiellen Markt schon erkannt und bieten Untersuchungen des Darmmikrobioms (Stichwort: „Dysbiose“) mit entsprechenden „Sanierungsoptionen“ an. Der Mikrobiom-Transfer (klingt besser als „Stuhl-Gabe“) bei komplizierter *Clostridium difficile* Infektion und vorangegangenen Antibiotikatherapien ist ein Beispiel für den aktuellen Einsatz; hier trifft das neue Mikrobiom aber auch auf eine nahezu „freie Bühne“ und kann sich dort halten. Mikrobiom-Analytik geht nur mit Testungen auf Basis fortgeschrittener next-generation-sequencing Verfahren und erste Ringversuche zeigen sehr ernüchternde Ergebnisse. Nichtsdestotrotz hält er

es für sicher, dass das Mikrobiom die Medizin von A (Allgemeinmedizin) bis Z (Zahnmedizin) beeinflussen wird.

In einem kurzen Schlusswort dankte Dr. Heinze allen Referenten für ihre praxisrelevanten Vorträge, den Zuhörern für ihr Interesse und den Sponsoren (BD Preanalytical Systems, sowie Roche Diagnostics und Sysmex Deutschland GmbH) für ihre Unterstützung.

Der zunächst für das Folgejahr angedachte Termin (Freitag, den 27.05.2016 sowie Samstag, den 28.05.2016) wird vermutlich verschoben werden müssen. Die genauen Daten werden frühzeitig mitgeteilt.

---

VERFASSER:

Dr. Klaus-Günter Heinze

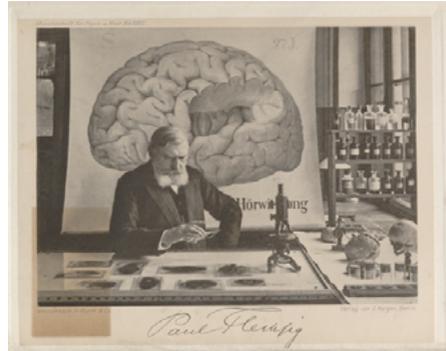
Institut für Medizinische Diagnostik Berlin-Potsdam MVZ GbR, Nicolaistraße 22, 12247 Berlin, e-Mail: kg.heinze@imd-berlin.de

## „Labor und Klinik“ - Eine Ausstellung zur Leipziger Universitätsmedizin im 19. Jahrhundert

Medizin in Leipzig existiert seit 1415 als akademisches Fach. Damals wurde die Medizinische Fakultät an der Universität gegründet. 600 Jahre danach erinnert die Universitätsbibliothek Leipzig an die große Zeit der Leipziger Medizin im 19. Jahrhundert. Im Zentrum steht die naturwissenschaftlich ausgerichtete Medizin, die dann prägend wurde und Leipzig entsprechend bekannt machte.

Schon einmal erinnerte eine Ausstellung der Universitätsbibliothek an die Tradition der Medizin in Leipzig: Das war 2007, als das Karl-Sudhoff-Institut für die Geschichte der Medizin und der Naturwissenschaften sein hundertjähriges Jubiläum feierte. Dieses weltweit älteste Institut der medizinhistorischen Forschung wurde von seinem Leiter, Karl Sudhoff, bis zu dessen Tod 1938 geleitet. Bücher aus dessen Sammlung finden sich in der aktuellen Ausstellung ebenso wie zahlreiche, selten zu sehende Dokumente des Universitätsarchivs, beispielsweise Patientenbücher und Vorlesungsprotokolle. Einen besonderen Eindruck machen die Hirnschnitte aus dem Paul-Flechsig-Institut, die in ihrer originalen Verglasung überlebt haben.

Die Pharmakologin und Medizinhistorikerin Prof. Ingrid Kästner hat den Katalog der Ausstellung als eine in mehrere Stationen geteilte Erzählung durch das ganze 19.



**Paul Flechsig** (1847-1929). Der Arzt am Mikroskop, Bild aus seiner Festschrift (1909)

Jahrhundert angelegt. Unter den Titelstichwörtern „Labor“ und „Klinik“ charakterisiert die Ausstellung zentral vier prägende Medizinerpersönlichkeiten: Der Physiologe Carl Friedrich Wilhelm Ludwig (1816-1895) und der Hirnforscher und Psychiater Paul Emil Flechsig (1847-1929) stehen für die naturwissenschaftliche Ausrichtung der Medizin und förderten sie speziell für ihre Fachgebiete. Beide waren weltbekannte Forscher und hatten einen großen Kreis von Schülern. In der Person von Paul Flechsig zeigt sich die Verbindung von Forschung und Klinik besonders gut: Aus dem experimentell arbeitenden Hirnforscher wird der Psychiater, der aber an seiner Klinik eine Abteilung für Neuroanatomie gründet und neben der Klinikleitung weiterhin forscht.

Carl Reinhold August Wunderlich (1815-1877) war als Internist ein moderner Kliniker, der „die eigentliche sociale Aufgabe des Arztes“ „im Heilen der Kranken sah, und dafür am kranken Menschen genaue Verlaufsbeobachtungen durchführte, Symptome aufzeichnete und die Beobachtungen statistisch auswertete, um verlässliche Aussagen über die Wirksamkeit einer Therapie zu erhalten. Er bekannte sich explizit zur experimentierenden Medizin: „Das Gedeihen einer Wissenschaft beginnt erst damit, dass sie sich exacter Methoden der Forschung bedient.“ Wunderlichs Wirkung reichte bis nach Japan, wo seine Schüler für die Verbreitung seines Denkens und seiner Behandlungspraxis sorgten.

Neben Carl Ludwig war es vor allem der Chirurg Carl Thiersch (1822-1895), dem die Leipziger Medizinische Fakultät ihren Aufschwung und Ruf im 19. Jahrhundert verdankte. Schon die Zeitgenossen würdigten Thiersch und dessen „Vereinigung von Anatomie und Chirurgie, von wissenschaftlicher Forschung und erfindender Kunst“ als eine „in seltener Weise fruchtbringende Kraft“. Thiersch war das Mikroskop genau so vertraut wie das chirurgische Messer. Forschen und Experimentieren wurden mit Thiersch auch für die Klinik selbstverständlich.

Die Ausstellung versucht, durch den Fokus auf vier Personen - Ludwig und Flechsig, Wunderlich und Thiersch - ein komplexes

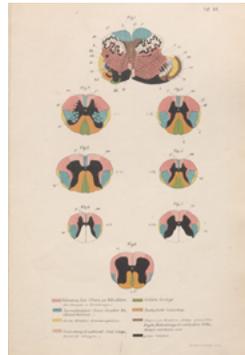


Abbildung aus Flechsigs Werk. Die Leitungsbahnen in Gehirn und Rückenmark des Menschen (Leipzig 1876). Zu sehen sind die Leitungsbahnen des Rückenmarkes.

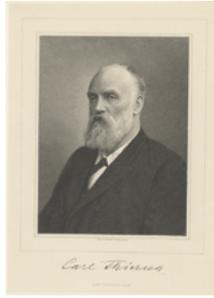


Abbildung wie diese aus dem Buch „Die Folterkammern der Wissenschaft“, (Leipzig 1879) sollen Abscheu gegen Tierexperimente erzeugen.

wissenschaftliches Geschehen verständlich werden zu lassen. Die Bücher bezeugen in Diagrammen und Zeichnungen, in Tabellen und Listen das Bemühen um Protokollierung des Krankheitsgeschehens und um Präzision in der Beschreibung des körperlichen Geschehens. Ein Kymographion steht in einer Vitrine und vermittelt anschaulich, wie die Flüssigkeiten im menschlichen Körper bewegungsmäßig aufgezeichnet wurden. Mikroskope sind auf großen Fotos zu sehen, wo mehrere Reihen von Studenten den Blick in die Feinheiten der Anatomie einüben. Die technische Unterstützung der ärztlichen Diagnose ist dann auch den Krankenhausprotokollen abzulesen, die auch im Unterricht eingesetzt wurden, wie wiederum Vorlesungsprotokolle belegen. Forschung und Lehre, Unterricht und Therapie werden miteinander verschränkt, wie das noch nie zuvor der Fall gewesen war.



**Carl Ludwig** (1816-1885)  
Foto um 1874



Carl Thiersch (1822-1895)

Übrigens fehlt die Kritik an der Schulmedizin nicht: Homöopathie und Vivisektionsgegner kommen ebenfalls zu Wort. Aber auch die Leipziger Krankenhausbauten des späten 19. Jahrhunderts sind photographisch dokumentiert. Eine Tafel gibt Auskunft zur engen Verbindung von Medizinischer Fakultät und Stadtverwaltung, sowohl in Hinsicht auf Hygiene, Seuchenbekämpfung wie bei der Gerichtsmedizin.

Die Ausstellung ist bis zum 18. Oktober 2015 in der Bibliotheca Albertina (Beethovenstr. 6, 04107 Leipzig) zu sehen, täglich geöffnet von 10 bis 18 Uhr. Der Katalog zur Ausstellung ist reich bebildert, zählt 80 Seiten und ist über den Buchhandel zu beziehen bzw. kann vor Ort erstanden werden.

*([www.laborundklinik.de](http://www.laborundklinik.de))*

VERFASSER:

---

Prof. Dr. Ulrich Johannes Schneider

Mail: [schneider@ub.uni-leipzig.de](mailto:schneider@ub.uni-leipzig.de)

Tel.: +49 341 97-30501

**Im Rahmen der Eröffnungsveranstaltung der DGKL-Jahrestagung am 14. Oktober 2015 in der Albertina besteht die Möglichkeit, die Ausstellung „Labor und Klinik“ zu besuchen.**

**XXVIII**  
World Congress of the  
World Association of  
Societies of Pathology  
& Laboratory Medicine

**XIV**  
Congreso  
Nacional de la  
FEDPATMEX

**XLV**  
Congreso  
Nacional  
Mexicano de  
Patología  
Clínica

**LVII**  
Congreso Anual  
de la Asociación  
Mexicana de Patólogos

**Pathology and Laboratory Medicine:  
on the forefront of personalized medicine**

**November 18<sup>th</sup> to 21<sup>st</sup>, 2015**

*Cancún, México*

[www.pathologycancun2015.org](http://www.pathologycancun2015.org)

Business  
Congress  
México

# 3 MITTELDEUTSCHE LABORKONFERENZ

## MODERNE ANALYTIK IN DER PATIENTENVERSORGUNG

26.–28.05.2016  
DORINT HOTEL DRESDEN

LABORMEDIZIN UND KLINISCHE CHEMIE  
– EIN INTERDISZIPLINÄRER PARTNER IN KLINIK UND FOSCHUNG

- Bidirektionale Wechselwirkung zwischen Entzündung und Metabolismus
- Individualisierte Molekulardiagnostik – fachübergreifende Ansätze
- Hämatologie und Cytologie – Technische Entwicklungen und ihre Umsetzung in der Praxis
- Labormedizin – ein interdisziplinärer Partner in der Hämostaseologie – Die Veranstalter des Dresdner Gerinner-Dinners im Dialog zu wichtigen hämostaseologischen Fragen



[www.mitteldeutsche-laborkonferenz.de](http://www.mitteldeutsche-laborkonferenz.de)

## Veranstungskalender

DATUM, ORT	VERANSTALTUNG
23.09.-26.09.2015 Dresden	12th Dresden Symposium on Autoantibodies
27.09.-30.09.2015 Münster	67th Annual Conference of the German Society of Hygiene and Microbiology (DGHM) e.V
30.09.-02.10.2015 London (UK)	2015 ESBB Biobanking Conference
01.10.-02.10.2015 Frankfurt am Main	GDCh - Qualitätsmanagement im analytischen Labor
01.10.-02.10.2015 Igls (Österreich)	ÖQUASTA - Symposium 2015
01.10.-03.10.2015 Köln	10. Deutscher Allergiekongress
08.10.-10.10.2015 Lübeck	23. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik
08.10.-10.10.2015 Berlin	DGK 2015 - Herbsttagung und Jahrestagung der Arbeitsgruppe Rhythmologie
09.10.-13.10.2015 Basel (Schweiz)	Jahrestagung der Deutschen, Östreichischen und Schweizerischen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie
14.10.-17.10.2015 Leipzig	12. Jahrestagung der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
24.10.-25.10.2015 Zagreb (Kroatien)	15th EFLM continuous postgraduate course in clinical chemistry and laboratory medicine
26.10.-27.10.2015 Bad Staffelstein	„LC-MS/MS in der Labormedizin“ - 13. Anwendertreffen der AG LC-MS/MS
28.10.-30.10.2015 Marseille (Frankreich)	Pancreatic Cancer Symposium

Weitere Informationen zu den Veranstaltungen finden Sie unter [www.dgkl.de](http://www.dgkl.de).

VERANSTALTUNGEN

---

DAM, ORT	VERANSTALTUNG
13.11.-14.11.2015 Hamburg	4. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Transitionsmedizin
16.11.-19.11.2015 Düsseldorf	Medica Education Conference
18.11.-21.11.2015 Cancun (Mexiko)	XXVIII World Congress World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine
01.12.-02.12.2015 München	5th Munich Biomarker Conference
09.12.-10.12.2015 Berlin	4. Nationales Biobanken-Symposium
25.01.-28.01.2016 Dubai (UAE)	Arab Health

## NEUE MITGLIEDER:

Die Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin begrüßt die folgenden neuen Mitglieder:

DR. BERNHARD RAFFEL

Bundeswehrzentral Krankenhaus Koblenz

DR. MED. LEON HOLZSCHEITER

Städtisches Klinikum München (GmbH)

DR. CHRISTOPH ELLER

Zentrallabor, Universitätsklinikum Halle

## VERSCHOLLENE MITGLIEDER:

Folgende Kollegen und Kolleginnen sind auf dem Postweg derzeit nicht zu erreichen:

DR. THOMAS HIERL

Bronnackerstraße 1, Balingen

DIPL.-CHEM. CHRISTOPH HOFFMANN

Achenbach-Kreiskrankenhaus, Zentrallabor  
Königs Wusterhausen

DR. DIETMAR LÖBEL, Baden-Baden

DR. NORBERT MUSIOL, Bochum

DR. ACHIM OBERGFELL

Novo Nordisk Region Europe A/S, Biopharm,  
Medical Affairs NNRE, Zürich, SCHWEIZ

DR. CHRISTIAN PRANTE, Herz- u. Diabeteszen-  
trum NRW - Universitätsklinik Ruhr-Univ.  
Bochum, Bad Oeynhausen

DR. HILKEA KRESTEL, Aschau i. Chiemgau

UNIV.-PROF. DR. PROF. DR.

RUDOLF KARL ZAHN, Wiesbaden

DR. MANFRED ZWIRNER, Eberhard-Karls-Uni-  
versität, Frauenklinik, Tübingen

DR. ANNE SCHOLZ

Klinikum Niederlausitz GmbH, Senftenberg

DR. JOSEF ECKER

Universitätsklinikum Regensburg

DR. MITRA HASSANI, Duisburg

Über eine Mitteilung der aktuellen Adressen an die Geschäftsstelle der DGKL wären wir sehr dankbar: Geschäftsstelle der DGKL, Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn, Frau Bayramci-Schmitz, Telefon: 0228-92 68 95-13, Telefax: 0228-92 68 95-27, e-mail: sekretariat@dgkl.de

Universitätsklinikum Ulm



Ausgezeichnet in Forschung,  
Lehre und Krankenversorgung




Das Universitätsklinikum Ulm und seine Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter stehen für eine moderne Patientenversorgung mit hoher Qualität, exzellente Spitzenforschung und eine auf die Zukunft ausgerichtete medizinische Lehre sowie Ausbildung in attraktiven Berufsfeldern. Voraussetzungen dafür sind Engagement, hohe Innovationskraft, Verantwortungsbewusstsein und eine ausgeprägte interdisziplinäre Kooperationsbereitschaft als wichtige Eckpfeiler einer an den Bedürfnissen der Patienten ausgerichteten Universitätsmedizin. Mit diesem selbst gestellten Anspruch stehen unsere Kliniken und Institute an 365 Tagen im Jahr für eine Maximalversorgung der Regionen Ostwürttemberg, Donau/Iller und Bodensee-Oberschwaben bereit.

In der Zentralen Einrichtung Klinische Chemie (Ärztl. Direktor: Prof. Dr. Hans Jürgen Groß) des Universitätsklinikums Ulm ist ab 01.01.2016 eine Stelle als

**Wissenschaftlicher Mitarbeiter (m/w) (bevorzugt Dipl. Chemiker (m/w), Arzt (m/w))**

in Vollzeit und zunächst befristet für 2 Jahre zu besetzen. Eine an die Befristung anschließende Weiterbeschäftigung ist möglich.

**Ihre Aufgaben:**

- Wissenschaftliche und medizinische Betreuung der Arbeitsplätze HPLC-Analytik und LC-MS-Analytik und Atomabsorptionsspektrometrie
- Beteiligung am Unterricht für Medizinstudenten

**Ihr Profil:**

- abgeschlossenes Studium vorzugsweise als Diplom-Chemiker/in, welche/r die Weiterbildung zum/r Klinischen Chemiker/in anstrebt bzw. Arzt/Ärztin, der /die Weiterbildung zum/r Facharzt/Fachärztin für Biochemie bzw. Laboratoriumsmedizin anstrebt.
- Erfahrung in quantitativer Chromatographie und Massenspektrometrie
- Erfahrung in eigenständiger Entwicklung chromatographischer Methoden ist vorteilhaft

**Unser Angebot:**

- Bezahlung nach TV-L sowie betriebliche Altersvorsorge
- Weiterbildungsmöglichkeiten:
- Der Ärztliche Direktor hat die Weiterbildungsermächtigung zum/r Facharzt/Fachärztin für Biochemie (4 Jahre), für Laboratoriumsmedizin (6 Monate) und zum/r Klinischen Chemiker/in
- Möglichkeit zur Promotion ist gegeben
- Unterstützung bei der Vereinbarkeit von Beruf und Familie
- Betriebliche Gesundheitsförderung
- Zahlreiche Freizeitmöglichkeiten in Ulm und Umgebung

**Haben wir Ihr Interesse geweckt?**

Wir freuen uns auf Ihre aussagekräftigen Bewerbungsunterlagen. Diese richten Sie bitte an:

Universitätsklinikum Ulm  
Prof. Dr. H. J. Groß  
Ärztlicher Direktor der ZE Klinische Chemie  
Albert-Einstein-Allee 23  
89081 Ulm

Vertragsart: <b>Befristet</b>	Beschäftigungsgrad: <b>Vollzeit</b>
Referenzcode: <b>103911</b>	Bewerbung bis: <b>13.09.2015</b>

Eine an die Befristung anschließende Weiterbeschäftigung ist möglich. Die Einstellung erfolgt durch die Verwaltung des Klinikums im Namen und im Auftrag des Landes Baden-Württemberg. Schwerbehinderte Bewerber/Innen werden bei gleicher Eignung vorrangig eingestellt. Vollzeitstellen sind grundsätzlich teilbar.

## Gehen Sie in der Seestadt Bremerhaven an Bord der Klinikum Bremerhaven-Reinkenheide gGmbH

Die Klinikum Bremerhaven-Reinkenheide gGmbH ist ein Krankenhaus der Maximalversorgung und umfasst 14 Kliniken und 2 Institute mit zurzeit 696 Betten. Weitere Informationen finden Sie im Internet unter [www.klinikum-bremerhaven.de](http://www.klinikum-bremerhaven.de)

Wir suchen für unser **Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin mit Laborpraxis (Chefarzt und Praxisinhaber Prof. Dr. med. Klaus Hartung)** zum 01.01.2016 einen

 **FACHARZT (M/W)**  
FÜR LABORATORIUMSMEDIZIN

oder

 **ARZT (M/W)**  
IN FORTGESCHRITTENER WEITERBILDUNG  
FÜR LABORATORIUMSMEDIZIN

Die Stelle ist zu besetzen, da unsere Mikrobiologin im Klinikum ab 2016 hauptamtlich in die Funktion der Klinikhygienikerin wechselt. Das Leistungsspektrum des Instituts umfasst nahezu die gesamte Breite der Laboratoriumsmedizin. Wir führen jährlich etwa 1,5 Millionen Analysen durch, sowohl für das Klinikum als auch für externe Einsender. Der Chefarzt ist zur Weiterbildung in sowohl Laboratoriumsmedizin (4 Jahre) als auch Transfusionsmedizin (1 Jahr) befugt.

**Wir bieten** einen interessanten Arbeitsplatz mit einer flachen Hierarchie und einem breitgefächerten Aufgabenspektrum. Das Institut wird voraussichtlich in 2016/17 neue moderne Laborräume im Klinikum beziehen und erhält auch eine neue Gerätegeneration. Die Vergütung erfolgt nach dem TV-Ärzte/VKA. Eine Zulage wird bei Übernahme von Schlüsselfunktionen im institutseigenen Blutspendedienst gewährt.

**Wir wünschen uns** eine zuverlässige Persönlichkeit mit Freude an einer vielseitigen anspruchsvollen Tätigkeit. Idealerweise verfügen Sie neben dem Facharzt für Laboratoriumsmedizin auch über gute Kenntnisse in der Labor-EDV, der Mikrobiologie und der Transfusionsmedizin.

Eine einjährige klinische Erfahrung in der Inneren Medizin sowie mindestens zwei Jahre Laboratoriumsmedizin sind Voraussetzungen für die Einstellung.

Wir fördern die Einstellung von Frauen und begrüßen daher ihre Bewerbungen. Schwerbehinderte werden bei gleicher fachlicher und persönlicher Eignung bevorzugt eingestellt.

Das Klinikum engagiert sich besonders auf dem Gebiet der Vereinbarkeit von Beruf und Familie. Günstige Wohnmöglichkeiten finden sich vor Ort. Bei der Beschaffung einer Kinderbetreuung und von Wohnraum sind wir gerne behilflich; alle weiterführenden Schulen und günstige Wohnmöglichkeiten sind vor Ort vorhanden.



**Klinikum  
Bremerhaven**  
Reinkenheide gGmbH

### Für Rückfragen

steht Ihnen der Chefarzt, Herr Professor Hartung, gerne zur Verfügung (Tel.: 0471/299-3219).



Ihre aussagekräftige Bewerbung mit den üblichen Unterlagen richten Sie bitte an die

**Klinikum Bremerhaven-  
Reinkenheide gGmbH**  
– Abteilung  
**Personal & Recht –**  
**Postbrookstraße 103**  
**27574 Bremerhaven**  
**personalabteilung@**  
**klinikum-bremerhaven.de**

## ZENTRUM FÜR HUMANGENETIK UND LABORATORIUMSDIAGNOSTIK (MVZ)

Dr. Klein, Dr. Rost und Kollegen



Das Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsdiagnostik (MVZ) in Martinsried bei München wurde 1998 aus dem Institut für Klinische Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität gegründet und ist heute eines der größten Spezial-Laboratorien in Deutschland. Unser Dienstleistungsportfolio umfasst neben klassischen Laboranalysen aus der Klinischen Chemie, Hämatologie und Immunologie zahlreiche Spezialanalysen aus dem Bereich der humangenetischen Diagnostik, Pathologie, Onkologie, Mikrobiologie und der Virologie.

Zum nächstmöglichen Zeitpunkt suchen wir eine/n hoch motivierte/n

### **Klinische/-n Chemiker/-in oder Facharzt/Fachärztin für Laboratoriumsmedizin**

mit sehr gutem fachlichen Hintergrund für den weiteren Auf- und Ausbau des Fachbereichs Laboratoriumsmedizin. Unser kleines Team in der klassischen Laboranalytik beschäftigt sich schwerpunktmäßig mit Analysen im Zusammenhang mit Kinderwunsch, hämatologischen Erkrankungen und Stoffwechselstörungen.

#### **Ihre Aufgaben:**

- Medizinische, wissenschaftliche und organisatorische Betreuung der Diagnostik
  - Hämatologie, inkl. Durchflusszytometrie / Immunphänotypisierung
  - Gerinnungsdiagnostik
  - Autoantikörper-Diagnostik
  - Bestimmung von Hormonen
- Klinische Interpretation, Befundung und Validierung von immunologischen und labormedizinischen Untersuchungsergebnissen
- Anwendungsbezogene Etablierung und Weiterentwicklung von Methoden
- Personalführung, strategische Ausrichtung der Abteilung
- Vorbereitung und Präsentation wissenschaftlicher Themengebiete, Literaturarbeit

#### **Ihre Qualifikation:**

- Approbation, abgeschlossene Facharztausbildung Laboratoriumsmedizin oder abgeschlossenes Studium mit Weiterbildung zum Klinischen Chemiker (m/w)
- wissenschaftliche und praktische Erfahrung im Bereich immunologischer, hämatologischer und allgemeiner labormedizinischer Diagnostik
- ausgeprägte Sozial- und Führungskompetenz

#### **Unser Angebot:**

- Vernetzung mit anderen Fachdisziplinen unter dem gemeinsamen Dach der „Molekularen Diagnostik“, Arbeitsumfeld mit modernster Ausstattung
- hervorragender Teamgeist und eine offene Kommunikationskultur

Wenn Sie Interesse an dieser Aufgabe haben und unser gut eingespieltes Team gerne tatkräftig mitverantwortlich leiten möchten, freuen wir uns auf Ihre Bewerbung (gerne auch als PDF-Datei) unter Angabe Ihres möglichen Eintrittstermins und Ihrer Gehaltsvorstellung.

Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsdiagnostik (MVZ), z. Hd. Personalabteilung, Lochhamer Str. 29; 82152 Planegg-Martinsried; E-Mail an: [info@medizinische-genetik.de](mailto:info@medizinische-genetik.de)