

17. MIKROGEN SYMPOSIUM **Infektiologie und Diagnostik: gestern – heute – morgen**



Freitag, 24. Mai 2019, 10:00 – 17:00 Uhr
Haus der Bayerischen Wirtschaft
Max-Joseph-Straße 5, 80333 München

Moderation und ärztliche Leitung: Prof. Dr. med. Lutz Gürtler

Prof. Dr. med. Lutz Gürtler

Max von Pettenkofer Institut der
Universität München, LMU München
Pettenkofer Straße 9a
80336 München
Tel. +49 89 2180 72874
lutz.guertler@gmx.de

Prof. Dr. Georg Bauer

Institut für Virologie,
Universitätsklinikum Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11
79104 Freiburg
Tel. +49 761 263 6618
georg.bauer@uniklinik-freiburg.de

PD Dr. Andreas M. Kaufmann

Leiter des Labors Tumorimmunologie in
der Klinik für Gynäkologie
Charité Berlin
Hindenburgdamm 30
12200 Berlin
Tel. +49 30 8445 2756
andreas.kaufmann@charite.de

Dr. Mateusz Markowicz

Institut für Hygiene
und Angewandte Immunologie
Medizinische Universität Wien
Kinderspitalgasse 15
A-1090 Wien
Tel. +43 40160 33023
mateusz.markowicz@meduniwien.ac.at

PD Dr. med. Sven Pischke

MVZ des UKE/1. Medizinische Klinik,
UKE Hamburg
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Tel. +49 40 74100
s.pischke@uke.de

Dr. Petra Emmerich

Bernhard-Nocht-Institut
für Tropenmedizin (BNITM),
Abteilung Virologie
Bernhard-Nocht-Straße 74
20359 Hamburg
Tel. +49 40 42818 950
emmerich@bnitm.de

Dr. Christian Noah

Infektionsdiagnostik, Labor
Lademannbogen MVZ GmbH,
Professor-Rüdiger-Arndt-Haus
Lademannbogen 61-63,
22339 Hamburg
Tel. +49 40 53805 706
c.noah@labor-lademannbogen.de

Prof. Dr. Horst Domdey

BioM GmbH
Am Klopferspitz 19a
82152 Martinsried
Tel. +49 89 89 96 79-0
info@bio-m.org

10:55 – 11:40

30 Jahre HIV – 30 Jahre Fortschritt in der Diagnostik

Prof. Dr. med. Lutz Gürtler

11:40 – 12:15

EBV-Diagnostik vor und in 30 Jahren

Prof. Dr. Georg Bauer

12:15– 12:50

Zervixkarzinom-Prävention durch HPV Testung: das neue organisierte Screeningprogramm (und seine möglichen Folgen)

PD Dr. Andreas M. Kaufmann

13:50 – 14:25

Aktuelles zur Diagnostik der Lyme-Borreliose

Dr. Mateusz Markowicz

14:25 – 15:00

Hepatitis E – unverhofft kommt oft ...

PD Dr. med. Sven Pischke

15:20 – 15:55

Aktuelle Daten zu Arbovirus-Infektionen

Dr. Petra Emmerich

15:55 – 16:30

Trend in der molekularen Infektionsdiagnostik: die Syndrom-spezifische Multiplex-PCR

Dr. Christian Noah

16:30 – 17:00

**Von universell zu individuell:
Neue diagnostische und therapeutische Verfahren
bereiten den Weg in die Medizin der Zukunft**

Prof. Dr. Horst Domdey

30 Jahre HIV – 30 Jahre Fortschritt in der Diagnostik

Prof. Dr. med. Lutz Gürtler

Max von Pettenkofer Institut, LMU München

HIV, das humane Immunschwächevirus, war 1981, als erstmals die Krankheit beschrieben und definiert wurde, eine Bedrohung im Gesundheitswesen, auch wenn damals die sexuelle Übertragbarkeit im Vordergrund stand. 1983 wurde das Virus isoliert und damit begann abgesehen von den vielen Leiden und Stigmatisierungen der Patienten und Kosten, die durch dieses Virus verursacht wurden, eine Erfolgsserie in der Entwicklung moderner Therapeutika/ Antiviralia und moderner Diagnostik.

Antiretrovirale Therapie (ART)

Charakterisierung der 3 Enzyme und des Co-Rezeptors für den HIV Eintritt in die Zelle führte zur Entwicklung von Substanzen, die heute kombiniert und regelrecht angewendet, die HIV bedingte Immunschwäche verhindern, die HIV Übertragung während der Schwangerschaft und beim Stillen – Mutter-Kind-Übertragung – vermeiden und wegen der geringen Virusmenge im Körper bzw. Körperflüssigkeiten die sexuelle Übertragung ohne mechanische Schutzmaßnahmen erheblich einschränken kann.

Diagnostik

HIV Gruppen und Subtypen

HIV besteht aus 2 Typen, HIV-1 und HIV-2. HIV-1 besteht aus den Gruppen M bis P. HIV-1M besteht aus 9 Subtypen, von denen der Subtyp B in Nord-Amerika und Europa am verbreitetsten war und ist und somit

die Grundlage der Diagnostik bildet. Die weiteren anfangs in Afrika zirkulierenden Subtypen sind heute weltweit verbreitet und müssen in der Diagnostik erfasst werden. HIV-2, bestehend aus den Gruppen A bis H, ist weniger pathogen und weniger bedeutend, sodass bis heute ein kommerziell erhältlicher viral load Test nicht entwickelt wurde. Von HIV-1 Gruppe N sind nur etwa 20 Infizierte, von Gruppe P 2 Individuen meist in Kamerun bekannt. Die Gruppe O Verbreitung geht, seit etwa 1998 Infizierte über ELISA identifiziert werden können, weltweit zurück.

HIV-Antikörper

Die frühesten Nachweise von Viren erfolgten über Elektronenmikroskopie und indirekt über Antikörper über indirekte Immunfluoreszenz. Zeitgemäß wurde für HIV ein ELISA – enzyme linked immunosorbant assay – entwickelt, der heute mit sog. 4. Generationstests IgG, IgM und zusätzlich das p24-Antigen nachweist. Durch Hinzufügen von HIV-2 und Gruppe O Hüllantigen (Env) können heute Antikörper aller bekannten HIV sicher, d.h. sensitiv und spezifisch, erkannt werden. Westernblot als Bestätigungstest: wie bei jedem Antikörpernachweis geht eine hohe Sensitivität auf Kosten der Spezifität. Um falsch-positive ELISA Reaktionen zu erkennen, wurden die Einzelkomponenten von HIV elektrophoretisch getrennt auf eine in Streifen geschnittene Membran übertragen und mit den Streifen eine ELISA

Reaktion durchgeführt. Meist werden heute die HIV-Komponenten gentechnisch/rekombinant hergestellt. Unter Verwendung rekombinant hergestellter Antigene sind verschiedene Schnellteste erhältlich, die ein Ergebnis nach etwa 20 min erlauben. Ein Schnelltest ist wichtig in allen Entwicklungsländern für Patienten, Schwangere und kleine Blutbanken.

HIV Nukleinsäure-Testung (NAT)

Bei der Pathogenese ist die Virusmenge im Körper, gemessen über die Menge im Blut – viral load – entscheidend. Mit der Entwicklung des Nukleinsäurenachweises – meist über die PCR (polymerase chain reaction) stand ein Test zur Verfügung, der für die HIV Infektion seinen Eingang in die Routine-Diagnostik fand. Die NAT gehört heute zum Standard-Repertoire und kann, da sie in der Anfangsphase der Infektion sensitiver als der Westernblot ist, als Bestätigungstest verwendet werden. Die NAT wird qualitativ z.B. zum Erkennen kontaminierter Blutspenden, oder quantitativ zur Erfolgsmessung einer durchgeführten antiviralen Therapie (ART) verwendet.

Resistenzbestimmung der ART Medikamente über Nukleinsäure-Sequenzierung

Durch eine Therapie, auch mit der Kombination von 3 Medikamenten, wird ein Selektionsdruck auf HIV ausgeübt und die vorhandenen Mutationen, die die HIV-Vermehrung auch in Gegenwart hoher

Medikamentenspiegel erlauben, werden sich weiter vermehren. Über die NA Sequenzierung der Gene der Enzyme und des Corezeptors kann unter den mehr als 30 Medikamenten ausgewählt werden, welche Kombination am wirksamsten ist. Weitere Parameter, die die Wirksamkeit der Therapie einschätzen lassen, sind die viral load und die CD4-Zellzahl.

Opportunistische Infektionen und deren Diagnostik

Mit zunehmender Immunschwäche liegen vermehrt Infektionen vor, die einen chronischen Verlauf zeigen und häufig reaktiviert werden können. Hierzu gehören Viren wie die der Herpes-Gruppe, Papillomaviren, Bakterien wie Mycobacterium tuberculosis, Pilze wie Candida und Aspergillus und Protozoen wie Toxoplasma. Für alle diese Erreger ist eine moderne und zuverlässige Diagnostik verfügbar – über Antikörper-Bestimmung und Genomnachweis (NAT).

Aufklärung und Erziehung

Je besser ein Patient informiert ist, umso besser kann er die Krankheit verstehen und verhüten und die Übertragung von Infektionserregern verhindern. Je besser ein Arzt informiert ist, umso präziser kann er eine Diagnose stellen und eine notwendige Behandlung einleiten. Eine präzise Diagnostik von den relevanten Infektionserregern ist nach 30 Jahren HIV Erfahrung heute sehr gut möglich und daran haben viele mitgewirkt.

EBV-Diagnostik vor und in 30 Jahren

Prof. Dr. Georg Bauer

Institut für Virologie, Universitätsklinikum Freiburg

Vor 30 Jahren war die differentialdiagnostische Bedeutung der EBV-Diagnostik im vollen Umfang erkannt, sowie die Rolle von EBV in der Onkogenese weltweit im Fokus der gut geförderten wissenschaftlichen Arbeit mehrerer Forschergruppen.

Der damalige Goldstandard der EBV-Diagnostik war durch Immunfluoreszenzverfahren definiert, die im Wesentlichen auf den grundlegenden Arbeiten der Arbeitsgruppe Henle beruhten. Quantitative Bestimmung von IgG und IgM gegen virales Kapsidantigen (VCA) mithilfe der indirekten Immunfluoreszenz wurde zur initialen Differenzierung von akuten und zurückliegenden EBV-Infektionen verwendet. In Einzelfällen erfolgte eine weitere Absicherung durch eine Bestimmung von Anti-EBNA mithilfe der antikomplementären Immunfluoreszenz. Die dabei verwendeten Raji-Zellen erlaubten jedoch keine klare Differenzierung zwischen Anti-EBNA-1 und Anti-EBNA-2. IgG gegen frühe Antigene (EA) wurden mithilfe der indirekten Immunfluoreszenz bestimmt und vor allem als Marker für Reaktivierungen gewertet. IgA gegen VCA und EA wurde bei der Suche nach Nasopharynxkarzinomen und für die Kontrolle des Therapieerfolgs eingesetzt.

In dieser Zeit wurden die ersten ELISA-Systeme zur EBV-Diagnostik entwickelt, wobei dabei die Befundungsstrategie auf den Konzepten beruhte, die durch die

Immunfluoreszenztechniken erarbeitet worden waren. Allerdings begegnete man den ersten EBV-ELISAs aufgrund der Erfahrungen in anderen Virussystemen mit einer gewissen Skepsis und daher wurde der Ruf nach Testsystemen mit der Qualität und Trennschärfe von „Bestätigungstests“ laut.

Die weitere Differenzierung der auf der Immunfluoreszenztechnik basierenden Testverfahren, insbesondere die Etablierung eines spezifischen Anti-EBNA-1-Tests und der Aviditätsbestimmung für VCA-IgG führten dazu, dass die Aussagekraft der EBV-Serologie wesentlich gesteigert werden konnte. Dabei wurden jedoch auch die Grenzen der diagnostischen Möglichkeiten aufgezeigt, die in der unerwartet hohen Variabilität der serologischen Antwort nach EBV-Infektionen begründet sind.

Die Etablierung von Testsystemen wie dem Immunoblot oder dem Lineassay mit einer großen Zahl hochgereinigter rekombinant hergestellter EBV-Antigene, wie sie vor allem durch Mikrogen vorangetrieben wurde, wurde den erkannten Notwendigkeiten einer eindeutigen EBV-Diagnostik gerecht. Dabei eröffnete die Einführung der Aviditätstestung mithilfe dieser Verfahren die Möglichkeit, auch bei seltenen aberranten serologischen Konstellationen schnell zu einer sicheren Diagnose zu gelangen. Die Entwicklung von Immunassays auf der Basis der Luminex-Technologie, unter Verwendung

mehrerer hochgereinigter rekombinant hergestellter EBV-Antigene, stellt eine logische Fortsetzung dieser Entwicklung dar. Sie wird durch den Einsatz der quantitativen PCR ergänzt, die in bestimmten Fällen eine Diagnosestellung erlaubt, insbesondere dann, wenn die Serologie an ihre Grenzen gelangt ist.

Die diagnostische Entwicklung in den nächsten Jahren wird durch eine weitere Optimierung der schon jetzt etablierten Hochdurchsatzverfahren bestimmt sein.

Daneben werden jedoch auch aussagekräftige Verfahren zur schnellen Diagnostik im Einzelfall und vor Ort eine gute Chance haben. Die Qualität zukünftiger EBV-Diagnostik wird vor allem davon abhängen, dass bei der Evaluierung neuer Testverfahren der Stochastik Rechnung getragen wird, die einer serologischen Antwort zwangsläufig zugrunde liegt. Des Weiteren bleibt zu hoffen, dass auch in Zukunft die Stufendiagnostik durch wissenschaftliche Grundlagen, und nicht primär durch das Ziel der Kostenvermeidung, bestimmt wird.

**Zervixkarzinom-Prävention durch HPV Testung:
das neue organisierte Screeningprogramm (und seine möglichen Folgen)**

PD Dr. Andreas M. Kaufmann

Klinik für Gynäkologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin

Das bisherige Gebärmutterhalskrebscreeningprogramm in Deutschland ist eine Erfolgsgeschichte, die auf einer 80 Jahre alten zytologischen Färbemethode beruht. Seit der gesetzlichen Einführung des PAP Screenings ab 1971 konnte die Inzidenz des invasiven Zervixkarzinoms um ca. 75% gesenkt werden. Heute kennen wir als wichtigste Ursache die Assoziation mit Humanen Papillomviren (HPV) und haben neue molekulare Methoden entwickelt, die versprechen die Inzidenz weiter zu senken. Dies wird Hand in Hand gehen mit der Primären Prävention durch HPV Impfung – doch weil die Durchimpfungsquoten leider nicht über 50% in Deutschland liegen, wird die Sekundäre Prävention durch Screening und Therapie von Vorstufen weiterhin ein wichtiger Bestandteil bleiben müssen. Dennoch muss das Screening modifiziert werden, um den Ansprüchen an moderne Diagnostik (Sensitivität und Spezifität, Kostendruck, Patientensicherheit) und dem Screening in zumindest teilweise geimpfter Population gerecht zu werden.

Dem hat der G-BA Rechnung getragen und das gesetzliche Screeningprogramm in Deutschland neu organisiert. Ab dem 1.1.2020 werden Frauen mittels Einladungsschreiben von den Krankenkassen informiert und zur Teilnahme am Screening eingeladen (Abb. re.). Den 20-34 Jährigen wird wie bisher ein jährliches zytologisches Screening angeboten, da eine HPV-Testung wegen

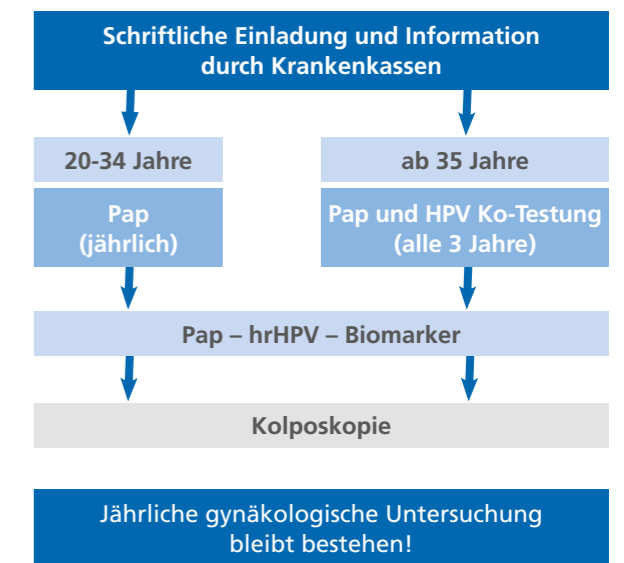
der hohen Prävalenz von bis zu 50% in dieser Altersgruppe nicht sinnvoll ist. Ab einem Alter von 35 Jahren wird ein Ko-Test aus zytologischem PAP Abstrich und einer HPV Testung angeboten. Dies kann alle 3 Jahre durchgeführt werden, da der hohe negative Vorhersagewert des HPV Tests diese Sicherheit bietet. Allerdings ist zu erwarten, dass etwa 8%-10% der Getesteten einen HPV positiven Befund erhalten.

Die Verbesserungen sind, dass einerseits die hochsensitive HPV Testung integraler Bestandteil des Vorsorgeprogramms wird, andererseits die Teilnahmeraten durch ein organisiertes Einladungs- und Registerprogramm von den derzeit ca. 50% pro Jahr erhöht werden sollen. Dabei wurde auch verschiedenen Interessensgruppen und einer öffentlichen Diskussion und der medizinischen Fachgesellschaften Rechnung getragen. Die Veränderung des Vorsorgeprogramms mit einer Steigerung der Teilnahme, individueller Information und sensitiveren Nachweismethoden kann aber auch neue Probleme aufwerfen, wie z.B. die Notwendigkeit einer effizienten Triage von entdeckten HPV Infektionen, die aber keinen unmittelbaren Krankheitswert haben müssen. An dieser Stelle werden neu entwickelte Methoden wie z.B. Onkoproteintests zukünftig eine große Rolle spielen können, die es ermöglichen ein Risiko für hochgradige Vorstufenstadien anzugeben oder sogar eine prognostische Aussage

zuzulassen. Andernfalls könnte der Benefit für das Gesundheitssystem und die gescreenteten Frauen fragwürdig sein.

Abb. re.: Schema der vom G-BA geplanten Prinzipien des Zervixkarzinom Screeningprogramms in Deutschland ab 2020.

Alle Frauen erhalten ab dem 20. Lebensjahr Einladungs- und Informationsschreiben von ihrer Krankenkasse, die zur Teilnahme am Screeningprogramm auffordern. Für Frauen im Alter von 20-34 Jahren bleibt der jährliche PAP Abstrich erhalten. Für Frauen ab einem Alter von 35 Jahren wird eine Ko-Testung mit PAP Zytologie und HPV Test gleichzeitig alle 3 Jahre angeboten. Die Überweisung zur Kolposkopie erfolgt bei hochgradigen Befunden, die einer Abklärung bedürfen. Das Anrecht auf die gesetzliche jährliche gynäkologische Untersuchung soll bestehen bleiben.



Aktuelles zur Diagnostik der Lyme-Borreliose

Dr. Mateusz Markowicz

Institut für Hygiene und Angewandte Immunologie, Medizinische Universität Wien

Lyme-Borrelien sind wirtsgebundene Spirochäten. Zu ihrem Reservoir gehören kleine Nager und bestimmte Vogelarten. Borrelien werden von Schildzecken der Gattung Ixodes in den gemäßigten Klimazonen der nördlichen Hemisphäre übertragen.

Der Infektionszyklus ist an die Blutmahlzeiten der jeweiligen Entwicklungsstadien der Zecken gebunden. Zecken-Nymphen in Mitteleuropa sind zu ca. 30% mit Lyme-Borrelien infiziert. Die wichtigsten humanpathogenen Arten in Europa sind: *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia bavariensis* (vormals *Borrelia garinii* OspA-Serovar 4), *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, gelegentlich *Borrelia spielmannii*, *Borrelia lusitaniae*; in Nordamerika *Borrelia burgdorferi sensu stricto* und die neu beschriebene *Candidatus Borrelia mayonii*.

Das häufigste Krankheitsbild der Lyme-Borreliose ist das Erythema migrans – ein roter oder blauroter Fleck mit oder ohne zentrale Aufhellung, der sich am häufigsten an der Stelle des Zeckenstiches einige Tage bis mehrere Wochen nach dem Zeckenstich entwickelt und an Größe zunimmt. Weitere, seltene Hautmanifestationen der Lyme-Borreliose sind das Borrelien-Lymphozytom – ein schmerzloser, blauroter Knoten oder Fleck, gewöhnlich an Ohrläppchen, Ohrhelix, Brustwarze oder Skrotum, häufiger bei Kindern als bei Erwachsenen – und die chronische Manifestation der Erkrankung: *Acrodermatitis chronica atrophicans*. Es

handelt sich dabei um lang bestehende rote oder blaurote Läsionen, gewöhnlich an den Streckseiten der Extremitäten. Die Läsionen werden später atrophisch.

Die Lyme-Neuroborreliose ist die zweithäufigste Form der Erkrankung, die meistens im Rahmen der frühen Dissemination der Borrelien auftritt. Bei Erwachsenen tritt eine Meningopolyradiculitis (Bannwarth-Syndrom), Meningitis, selten Enzephalitis, Myelitis, sehr selten zerebrale Vaskulitis auf. Bei Kindern beobachtet man hauptsächlich Fazialisparese und milde Meningitis.

Weitere Manifestationen der Erkrankung, wie Lyme-Arthritis, Lyme-Karditis und Augen-Manifestationen sind in Europa selten.

Mikrobiologische Diagnostik

Die mikrobiologische Diagnostik ist indiziert beim klinischen Verdacht auf Lyme-Borreliose mit der Ausnahme des Erythema migrans, da es sich bei dieser Form um eine klinische Diagnose handelt. Der direkte Erregernachweis (Kultur und PCR) wird nur in Speziallaboratorien durchgeführt und ist bis auf wenige Ausnahmen nicht für die Routinediagnostik geeignet. Beim indirekten Erregernachweis werden Borrelien-spezifische Antikörper nachgewiesen. Dabei müssen diagnostische Leitlinien beachtet werden. In der Praxis wird das sogenannte 2-Test-Verfahren angewendet. Der erste Test (IFT, ELISA, Chemilumineszenz etc.) ermittelt Antikörper der

IgG- und IgM-Klasse gegen *Borrelia burgdorferi*. Der zweite Test wird zur Überprüfung der Spezifität mittels Immunoblot mit einer relevanten Anzahl immundominanter Borrelien-Antigene durchgeführt. Seropositiv sind Ergebnisse, bei denen das erste und das zweite Testergebnis positiv sind. Die Labordiagnose der Lyme-Neuroborreliose erfolgt mit der Untersuchung der Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit (Liquor cerebrospinalis)

und des Serums, die am gleichen Tag abgenommen werden müssen. Der Nachweis von im Liquorraum gebildeten spezifischen Antikörpern der IgG-Klasse wird im sogenannten Liquor/Serum-Antikörper-Index angegeben. Zusammen mit der klinischen Symptomatik und einem entzündlichen Liquor (lymphoplasmazelluläre Pleozytose) wird damit die klinische Verdachtsdiagnose bestätigt.

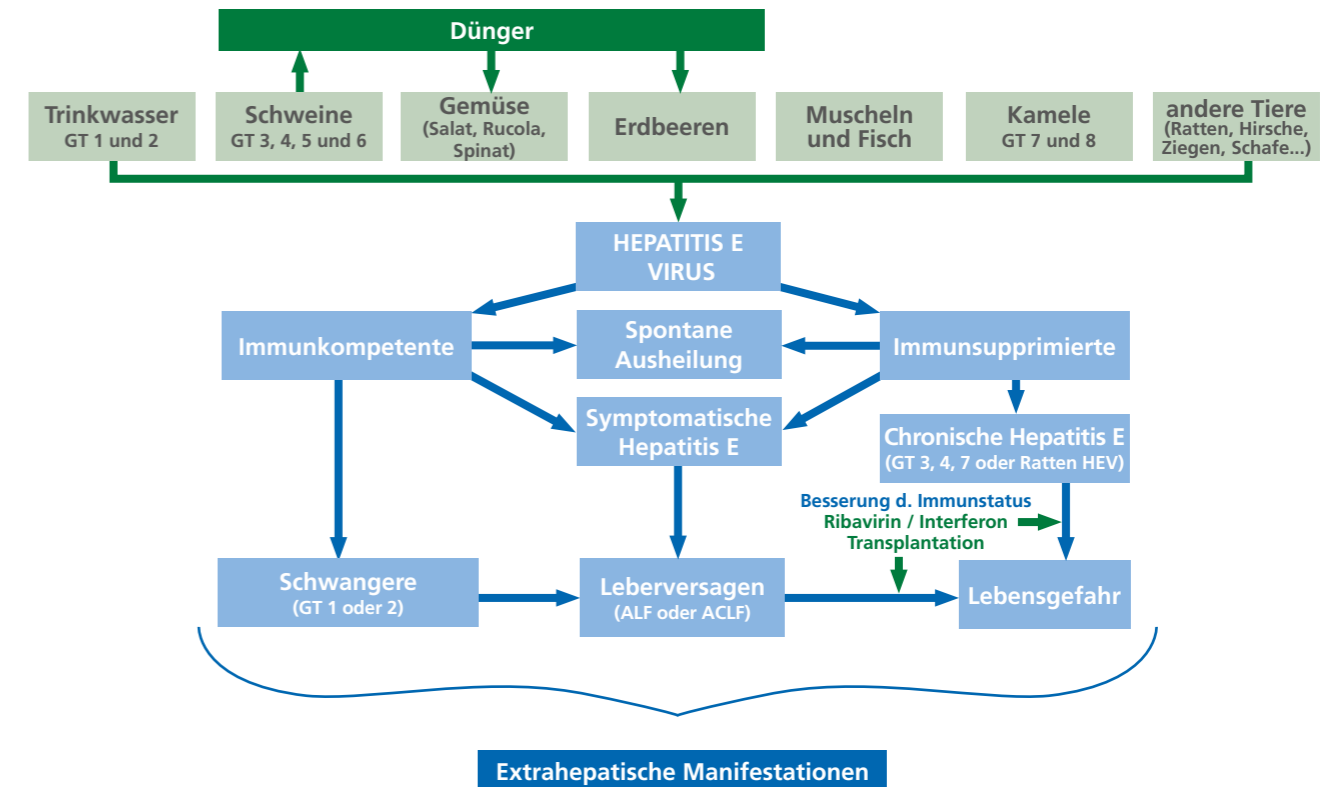
Hepatitis E – unverhofft kommt oft ...

PD Dr. med. Sven Pischke

MVZ des UKE/1. Medizinische Klinik, UKE Hamburg

Hepatitis E virus (HEV) Infektionen treten weltweit auf. Genotyp 1 und 2 Infektionen werden durch kontaminiertes Trinkwasser übertragen und sorgen für Epidemien in den Tropen. Sie sind mit einer Mortalität von 20% bei Schwangeren im dritten Trimenon assoziiert. Im Gegensatz hierzu werden Genotyp 3 und 4 Infektionen durch unzureichend gegartes Schweinefleisch in Industrienationen übertragen. Außerdem stellen Bluttransfusionen eine relevante Infektionsquelle dar, weshalb ab 01.01.2020 alle Blutprodukte in Deutschland auf HEV getestet werden. Genotyp 3 und 4 Infektionen verlaufen zumeist milde, jedoch treten bei älteren Männern und bei Patienten mit Lebergrundkrankheit manchmal Fälle von Akut-auf-Chronischem

Leberversagen (ACLF) auf. Die Genotypen 5-8 (bei Wildschweinen und Kamelen) spielen in Deutschland keine Rolle. Im Gegensatz zu Genotyp 1 und 2 können die Genotypen 3 und 4 bei Immunsupprimierten zu chronischen Verläufen mit Entwicklung einer Leberzirrhose führen. Weiterhin wurden im Zusammenhang mit HEV Infektionen zahlreiche mutmaßliche extrahepatische Manifestationen beobachtet; vor allem neurologische und immunologische/nephrologische. Zwar gibt es bislang keine zur Therapie einer Hepatitis E zugelassenen Medikamente, doch Ribavirin konnte sowohl bei akuter als auch chronischer Hepatitis E sicher und effizient eingesetzt werden (off-label).



Aktuelle Daten zu Arbovirus-Infektionen

Dr. Petra Emmerich

Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin (BNITM), Hamburg

Das West-Nil-Virus (WNV) ist ein von Arthropoden übertragenes Virus aus der Familie der Flaviviren. Es wird von Stechmücken (v.a. Culex- und Aedes-Arten) übertragen und zirkuliert in der Natur in einem Vogel-Stechmücken-Vogel Kreislauf. Vögel sind Amplifikationswirte und entwickeln zum Teil hohe Virämien.

Im Hitzesommer 2018 konnte das Virus erstmals in einem Bartkauz aus dem Zoo Halle/Saale nachgewiesen werden. Es folgten weitere Nachweise von West-Nil-Virus in toten Vögeln in verschiedenen Bundesländern Deutschlands. Bei den meisten Vögeln bleibt eine Infektion mit WNV symptomlos. Eine Reihe von Arten ist jedoch sehr empfänglich. Vor allem Eulen und Greife sowie Rabenvögel sind häufig betroffen. Für großes Aufsehen sorgte auch eine tödliche West-Nil-Virus-Infektion bei einem Pferd in Brandenburg. Das Virus wurde erstmals in Afrika isoliert, kommt aber auf allen Kontinenten vor, insbesondere in Europa.

Bei ca. 80% der infizierten Menschen verläuft die Infektion asymptomatisch. In ca. 20% kommt es nach einer Inkubationszeit von 2-14 Tagen zum West-Nil-Fieber (WNF), das meist mit grippeähnlichen Symptomen und ca. zur Hälfte mit einem stammbetonten makulopapulösen Exanthem einhergeht. Selten (ca. 1%) kommt es zur West-Nil Neuroinvasiven Erkrankungen (WNND). Sie geht mit ZNS-Komplikationen wie z.B. Enzephalitis,

Meningoenzephalitis, Enzephalomyelitis oder Polyradikulitis einher. Ca. 5-10% der Patienten mit WNND versterben, vor allem Ältere und Patienten mit einer Vorerkrankung und/oder einer Immunsuppression.

Um transfusionsassoziierte Infektionen zu vermeiden, werden in Deutschland Reisrückkehrer aus Endemiegebieten für 28 Tage von der Spende zurückgestellt oder auf WNV-RNA getestet. Eine Impfung für Menschen ist nicht verfügbar.

2018 meldete das European Centre for Disease Prevention and Control europaweit 181 Todesfälle. In Deutschland wurde bisher keine autochthone West-Nil-Virus-Infektion beim Menschen nachgewiesen.

Das Krim-Kongo hämorrhagische Fieber (CCHF) wird durch das gleichnamige Virus (CCHFV) hervorgerufen. Es ist ein Orthonairovirus und die geographische Verbreitung entspricht dem Vorkommen des Überträgers, Zecken der Gattung Hyalomma. CCHF ist in vielen Ländern Afrikas, Asiens, des Nahen Ostens und Südeuropas, hier vor allem in der Türkei und im Kosovo endemisch. 2016 und 2018 wurden 2 autochthone Fälle aus Spanien berichtet.

Die Übertragung auf den Menschen kann durch Zeckenbiss oder Kontakt zu infizierten Tieren erfolgen. Neben dem Menschen können eine Vielzahl von Vertebraten, vor

allem Wild- und Nutztiere infiziert werden, die als Amplifikationswirte fungieren. Die Tiere erkranken selbst nicht.

Insbesondere in Krankenhäusern kann es zu nosokomialen Erkrankungen kommen. Die infizierten Patienten müssen isoliert werden. Der Erreger ist in die Risikoklasse 4 eingruppiert und es bedarf eines BSL4-Labors, um mit diesem Virus zu arbeiten. Das Krankheitsbild beim Menschen reicht von inapparenten oder grippeähnlichen Verläufen bis hin zum Bild eines hämorrhagischen Fiebers mit hoher Letalität.

Ich werde Ihnen u.a. von meiner langjährigen Zusammenarbeit mit der Universität in Prishtina im Kosovo und den daraus gewonnenen Erkenntnisse zur CCHFV-Diagnostik berichten: In den letzten 5 Jahren (2013-2018) wurden über 33 humane CCHFV-Infektionen mit 11 Todesfällen im Nationalen Public Health Center Labor in Prishtina im Kosovo diagnostisch durch RT-PCR und Serologie bestätigt.

Trend in der molekularen Infektionsdiagnostik: die Syndrom-spezifische Multiplex-PCR

Dr. Christian Noah

Infektionsdiagnostik, Labor Lademannbogen MVZ GmbH, Hamburg

PCR-basierte Amplifikationsverfahren sind seit vielen Jahren integraler Bestandteil der Infektionsdiagnostik. Sie werden insbesondere für den Nachweis von kulturell nicht oder nur (zeit-) aufwändig anzüchtbaren sowie umweltlabilen Infektionserregern genutzt. Aufgrund ihres Zeitvorteils im Vergleich zu kulturellen Verfahren erfolgt ihr Einsatz darüber hinaus in Situationen, in denen rasche therapeutische bzw. Hygiene-relevante Entscheidungen getroffen werden müssen. Hinsichtlich ihrer Sensitivität sind sie zudem Antigen-Tests überlegen.

Die PCR wurde bis vor kurzer Zeit stets nach dem Prinzip „eine PCR-Reaktion – ein Target“ eingesetzt. Abgesehen von Fragestellungen, bei denen es um den spezifischen Ausschluss einzelner Erreger (beispielsweise MRSA) geht, kann dieser Ansatz allerdings zu kurz greifen. Denn die Symptome von Infektionskrankheiten sind häufig nicht spezifisch genug, als dass sie klinisch direkt einem einzelnen oder wenigen Erregern zugeordnet werden können. Ob es sich um respiratorische, urogenitale oder gastrointestinale Infektionen handelt: In der Regel kommt ätiologisch ein breites Erregerspektrum in Betracht. Die Fokussierung auf nur einen einzelnen Erreger birgt das Risiko einer fehlenden oder verzögerten Erregeridentifizierung. Zudem besteht die Gefahr, dass Co-Infektionen nicht erkannt werden. Mögliche Folgen sind ein nicht zeitgerechter Therapiebeginn sowie ein suboptimales

Therapie regime, welches die Basis für die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen sein kann.

Die Realtime-PCR bietet die technische Möglichkeit der gleichzeitigen Amplifikation mehrerer Targets und deren Differenzierung mit Hilfe unterschiedlicher Sondenmarkierungen. Auf dieser Technologie basierend wurde in der letzten Zeit eine Reihe von Testsystemen entwickelt, die den Nachweis mehrerer differentialdiagnostisch relevanter Erreger in einer Reaktion zusammenfassen und meist als Duplex- oder Triplex-PCRs angeboten werden. Derlei Tests lassen sich modular nach dem Baukastensystem zu Syndrom-spezifischen Multiplex-PCRs kombinieren. Darüber hinaus sind auch geschlossene Komplettsysteme verfügbar, bei denen das Erregerspektrum vom Hersteller vorgegeben und laborseitig nicht veränderbar ist.

Das Multiplex-PCR-Konzept stellt zweifelsohne eine sinnvolle Bereicherung für eine optimale infektiologische Diagnostik dar, kann andere Verfahren jedoch nicht generell ersetzen. Die Multiplex-PCR muss wie jedes andere diagnostische Verfahren hinsichtlich entsprechender Einschränkungen kritisch betrachtet werden. So kann sie durch die klar definierte Inklusivität von Erregern nicht allumfassend sein und weist zwangsläufig diagnostische Lücken auf. Bei der Auswahl der Erreger kommt es entscheidend auf die

Berücksichtigung epidemiologischer Aspekte an. Zudem sollte stets der konkrete Bezug zu einem spezifischen Syndrom gegeben sein.

Die Multiplex-PCR beinhaltet in der Regel keine Resistenzbestimmung, so dass im positiven Fall nur ein kalkulierter Therapieansatz möglich ist. Wie die Singleplex-PCR kann sie ferner nicht zwischen vitalen und nicht-vitalen Erregern unterscheiden. Eine Nukleinsäurepersistenz über Wochen und

Monate ist für einige Bakterien und Viren beschrieben. Positive Ergebnisse müssen somit immer im klinischen Kontext betrachtet werden. Insbesondere wenn fakultativ pathogene Erreger beispielsweise im Rahmen der Diagnostik von respiratorischen Infektionen nachgewiesen werden, sind hinsichtlich der Therapieindikation klinische und gegebenenfalls weitere labormedizinische Datenpunkte zu berücksichtigen.

Von universell zu individuell: Neue diagnostische und therapeutische Verfahren bereiten den Weg in die Medizin der Zukunft

Prof. Dr. Horst Domdey

BioM GmbH

Von immens großem Erfolg gekrönt war und ist das therapeutische Konzept der gentechnisch hergestellten monoklonalen Antikörper. Diese Makromoleküle haben eine Erfolgsgeschichte zu verzeichnen, wie man sie sich selbst in den kühnsten Träumen kaum hätte vorstellen können. Ähnliches erwartet man natürlich auch von einer Reihe gänzlich neuer Ansätze, wie z.B. gentherapeutischer Ansätze mit DNA, RNAi, mRNA, oder mit „adulten Stammzellen“. Stammzellen sollen dabei nicht nur im Bereich der regenerativen Medizin eingesetzt werden, sondern beispielsweise auch und gerade im Bereich der Tumorthherapie. In vielen Fällen ist es aber gerade die Kombination verschiedener therapeutischer Ansätze, die zu großen und in einigen Fällen auch gänzlich unerwarteten Erfolgen geführt hat.

All diese großartigen Entwicklungen haben allerdings ein anderes Problem, das es seit vielen Jahren auf dem Gebiet der medikamentösen Therapie von lebensbedrohenden Krankheiten gibt, nicht gelöst: Allein in den USA werden bei zirka zwei Millionen Menschen pro Jahr unerwünschte Nebenwirkungen nach Behandlung mit Therapeutika beobachtet, insbesondere wenn es sich dabei um so genannte „small molecules“ handelt. Interessanterweise können solche schweren Nebenwirkungen auch bei humanisierten monoklonalen Antikörpern auftreten, wie es das Beispiel TeGenero mit dem Antikörper gegen CD28 gezeigt hat, das zu einem unkon-

trollierten Cytokin-Sturm geführt hat. Diese unerwünschten Nebenwirkungen machen sogar die vierthäufigste Todesursache aus. Hinzu kommt ein weiteres großes Problem, nämlich eine sehr heterogene Wirkungsrate von Therapeutika bei den behandelten Patienten, die sich in der enormen Schwankungsbreite von 15% bis 80% bewegt. Nicht zuletzt auch aus diesem Grund mussten die Pharmaentwickler in den vergangenen Jahren eine Reihe härterer Auflagen durch die Behörden akzeptieren, in erste Linie bezüglich des Indikationsbereichs, aber auch in Bezug auf die Patienten, die für eine Behandlung in Frage kommen. Ein weiterer Grund für die gestiegenen Anforderungen der Behörden lag zu einem gewissen Teil auch in der Tatsache, dass die Preise einiger Medikamente förmlich explodiert sind und manche Therapien mehr als 10.000 Dollar oder Euro, in Einzelfällen sogar mehr als 100.000 Dollar beziehungsweise Euro kosten. In Zukunft wird, so die Annahme, eine Kombination von Therapeutika mit speziellen Diagnostika, den so genannten „Companion Diagnostics“, eine immer größere Rolle spielen. Durch dieses Vorgehen soll sichergestellt werden, dass nur diejenigen Patienten ein bestimmtes Therapeutikum erhalten, die aufgrund einer vorhergehenden Diagnose mit großer Wahrscheinlichkeit auf dieses auch wirklich ansprechen werden.

In den Nächsten zwei Jahrzehnten kommt der biomedizinischen und biopharmazeu-

tischen Forschung und Entwicklung vor allem eine zentrale Aufgabe zu. Den enormen Wissensgewinn des postgenomischen Zeitalters in neue Diagnose-, Therapie- und, nicht zu vergessen, neue Prophylaxe-Prinzipien zum Wohle der Patienten umzusetzen. Ein Weg dorthin ist die so genannte personalisierte Medizin. Ihr Merkmal liegt darin, dass hier die Erkenntnisse aus der Molekularbiologie, aus den Gebieten Genomics, Proteomics, Transcriptomics und Metabolomics, mit einer entsprechenden daraus resultierenden Diagnostik verknüpft werden und die Basis für eine zielgerichtete Therapie bilden. Die personalisierte Medizin bedient sich so genannter Biomarker, mit deren Hilfe diejenigen Patienten identifiziert werden, die eine sehr große Chance haben, auf eine bestimmte Therapie anzusprechen. Gleichzeitig sollen dabei bestimmte Patienten von einer ganz speziellen Behandlung ausgeschlossen werden, wenn sie mit besonders schweren Nebenwirkungen zu rechnen hätten. Die personalisierte Medizin, die auf der Nutzung von Biomarker-basierten Companion Diagnostics beruht, hat im Lauf der vergangenen Jahre große Aufmerksamkeit in den Medien und Fachmedien gefunden. Dennoch ist es bisher an keinem Standort der Welt gelungen, die einzelnen Bausteine von Genanalyse, Biomarker-Detektion, Verzahnung von Diagnostikum und Therapeutikum bis hin zur stringenten Definition von Patientensubpopulationen für spezifische klinische Studien konsequent an einer Stelle zu implementieren.

Trotz aller Fortschritte sind die therapeutischen Erfolge bei Krebserkrankungen im fortgeschrittenen Stadium weiterhin sehr begrenzt und eine tatsächliche Heilung ist nur in seltenen Fällen möglich. Wir sollten uns also der Tatsache bewusst sein, dass die

derzeit verfügbaren Krebstherapien im Prinzip lediglich den Todeszeitpunkt mehr oder weniger lang hinauszögern, aber nicht zu einer definitiven Heilung der Krebserkrankung führen – von einigen erfreulichen Ausnahmen einmal abgesehen. Deshalb ist es von immenser Bedeutung, neue Therapiemöglichkeiten zu entwickeln, die bei geringen Nebenwirkungsprofilen Krebserkrankungen heilen oder zumindest so stabilisieren, dass von behandelbaren chronischen Erkrankungen gesprochen werden kann.

Ein enormer Zuwachs im Verständnis der molekularen und zellulären Mechanismen des menschlichen Immunsystems innerhalb der letzten beiden Jahrzehnte ebnet den Weg für eine Reihe neuartiger, äußerst vielversprechender Tumorthérapien, die unser eigenes Immunsystem nutzen. Diese innovativen Therapieansätze werden unter dem Begriff Immuntherapie zusammengefasst. Bei der CAR-T-Zell-Therapie – CAR steht für Chimeric Antigen Receptor – handelt es sich um eine neuartige Krebsimmuntherapie, bei der gentechnologisch veränderte T-Zellen mit synthetischen antigenspezifischen Rezeptoren zur Anwendung kommen. Das Ziel bleibt, neue Therapien mit möglichst wenig Nebenwirkungen zu finden. Die Kombination von Diagnostik und Therapie ist entscheidend, um individuelle Patientenunterschiede eruieren zu können und therapeutisch darauf eingehen zu können.

Die Hoffnung ist, dass Deutschland die Digitalisierung der Medizin, wie manch andere Entwicklungen (Stammzelltherapie, Human Genome Projekt), nicht verpasst und auf eine Demokratisierung der Medizin, vielleicht durch Einsatz Künstlicher Intelligenz, setzt.

