



Lymphozytendifferenzierung

Entscheidend für ein funktionierendes Immunsystem sind die Quantität und die Funktionalität selektiver Abwehrzellen der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr. Immundefizite prädisponieren daher für wiederkehrende Infektionen und steigern das Risiko für Tumorerkrankungen.

TEXT Dr. rer. nat. ISABELLE ZIFFERT

ZELLULÄRER IMMUNSTATUS & LYMPHOMTYPISIERUNG

Die Lymphozytendifferenzierung ist ein Spezialverfahren, bei dem Oberflächen-Antigene von Zellpopulationen mit Antikörpern markiert und mit Hilfe der Durchflusszytometrie sortiert und quantifiziert werden. Die Methode gibt Einblicke in pathologische Veränderungen von Immunzellen und ist zentraler Bestandteil der Diagnostik hämatologischer Neoplasien. Besonders hilfreich ist die Durchflusszytometrie bei der Klassifikation von Leukämien und Lymphomen, sowie bei der Identifikation therapierelevanter Antigene (CD20/Rituximab), zur Prognoseeinschätzung und Quantifizierung maligner oder benignen Zellen im Therapieverlauf (MS, Chemo- & Strahlentherapie). Neben Vollblut können auch Knochenmark, Liquor, Pleurapunktat und BAL-Flüssigkeit analysiert werden.

Interpretation:

Der zelluläre **Immunstatus** informiert über relative und absolute Zahlen der Lymphozyten-Subpopulationen und stellt die Basis der Immundiagnostik dar. Bewertet werden absolute Lymphozytenzahlen, das Verhältnis einzelner Populationen zueinander (CD4/CD8-Ratio) sowie der Aktivierungszustand (HLA-DR+/CD3+). So können aktive Immunprozesse bei Infektionen und Autoimmunerkrankungen im Verlauf beurteilt werden. Die **Lymphomtypisierung** ermöglicht darüber hinaus die Differenzierung zwischen maligner und reaktiver B-Lymphozytose (Kappa/Lambda-Ratio). Durch sie können Lymphome anhand der Muster ihrer Antigenexpression unterschieden werden.

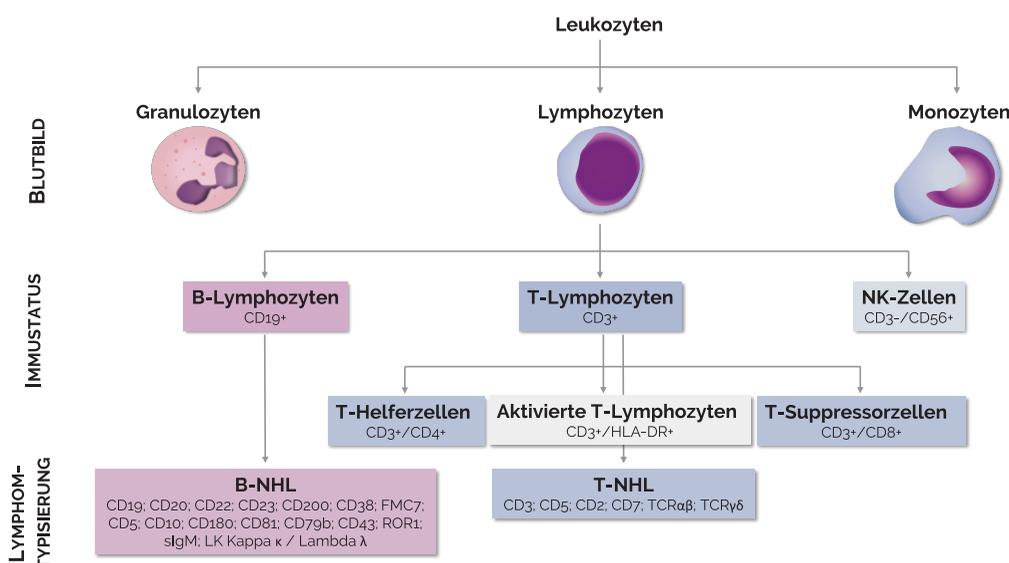


Abbildung 1: Übersicht der Leukozytenpopulationen und relevante Oberflächenmarker

Neueinführung:

Wir, das Medizinische Zentrallabor Altenburg, bieten Ihnen die Möglichkeit in Zukunft zwischen einem kleinen und einem großen Immunstatus (+ CD20) zu wählen. Weiterhin bieten wir Ihnen nach wie vor unsere Standardanalysen (siehe Tabelle 1) an.

Tabelle 1: Übersicht Anforderung und Indikationen

Profil	Analyten	Indikation
Immunstatus	CD19; CD3; CD4; CD8; CD56; CD4/CD8-Ratio; CD57; HLA-DR	<ul style="list-style-type: none"> • primäre und sekundäre Immundefekte • Diagnostik und Therapie-Monitoring bei HIV-Infektionen • Therapie-Monitoring Autoimmunerkrankungen (e.g. MS) • Therapie-Monitoring bei Immunsuppression bzw. Immunstimulation
Immunstatus + CD20	CD19; CD20; CD3; CD4; CD8; CD56; CD4/CD8-Ratio; CD57; HLA-DR	<ul style="list-style-type: none"> • Identifikation therapierelevanter CD20 Antigen Expression • Therapie-Monitoring unter Immunsuppression (Rituximab, Ocrelizumab) außerhalb der Lymphomtherapie
Lymphom-Panel	CD19; CD20; CD22; CD23; CD200; CD38; FMC7; CD5; CD10; CD180; CD81; CD79b; CD43; ROR1; slgM; Kappa / Lambda	<ul style="list-style-type: none"> • Verdacht auf B-Zell-Lymphome / reife B-Zell-Leukämien (B-NHL) • Ausschluss klonaler maligner B-Lymphozyten-Population • Differenzierung Lymphomentität durch Definieren der Antigenexpression von pathologischen B-Zellpopulationen
T-NHL	CD3; CD5; CD2; CD7; TCR-alpha/beta TCR-gamma/delta	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnose und Klassifikation von T-Non-Hodgkin-Lymphome
Plasmazell-neoplasien	CD45; CD19; CD38; CD138; CD27; CD56; CD28; CD117	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnose Multiples Myelom, MGUS

Hinweis: Bitte bei Anforderung immer Diagnose und Fragestellung angeben. Material muss spätestens 24 Std. nach Entnahme im Labor verarbeitet werden.

Material (frisch): möglich aus: EDTA-Vollblut, Knochenmark, Liquor, BAL-Flüssigkeit, Pleurapunktat

Präanalytik: frisch, nicht abzentrifugiert oder eingefroren, Kühlung ist nicht erforderlich

Normbereich: Beurteilung im Befundbericht

Ansatz: werktags

Abrechnung: Ist bei gegebener Indikation im kassen- und privatärztlichen Bereich gegeben.

Sollten Sie diesbezüglich weitere Fragen haben, steht Ihnen Dr. rer. nat. Isabelle Ziffert unter der Rufnummer 03447-5688-42 zur Verfügung.

Tabelle 2: Übersicht Befundinterpretation

Zellpopulation	Anstieg	Abfall
T-Lymphozyten [CD3+] <ul style="list-style-type: none"> stellen größten Anteil der Lymphozyten dar Pilzinfektion, virale Infektion, gegen Tumorzellen und regulativen Mechanismen 	<ul style="list-style-type: none"> reaktiv bei Aktivierung des Immunsystems v.a. in der Frühphase systemischer Virusinfektionen bei akutem Schub einer Autoimmunerkrankung in der Frühphase bei Transplantationsabstoßung bei T-Zell-Lymphomen 	<ul style="list-style-type: none"> system. Virusinfektion (späte/chron. Phase) zelluläre Immundefizienz HIV-Infektionen, malignen Tumoren immunsuppressive Therapie nach Chemo- und Strahlentherapie im Alter konstitutionell
T-Helferzellen [CD3+/CD4+] <ul style="list-style-type: none"> zentrale Stellung in zellulärer Immunabwehr Erkennung von Antigenen die ihnen präsentiert werden Unterstützung bei der Differenzierung der B-Zellen 	<ul style="list-style-type: none"> frühes Zeichen bei immunologischer Aktivierung (Virusinfektion, Autoimmunkrankheit) Sezary-Syndrom, anderen T-Zell-Lymphomen häufig, aber nicht obligat, bei Sarkoidose, MS, Leberzirrhose, SLE, Rheumatoider Arthritis 	<ul style="list-style-type: none"> Spätphase system. Virusinfektion chron.-pers. Virusinfekte (HBV, CMV, EBV) HIV-Infektionen, Leukämie, Tumore Tuberkulose längere therapeutische Immunsuppression und Tumor-Chemo/Strahlentherapie im Alter konstitutionell
CD8-Lymphozyten [CD3+/CD8+] <ul style="list-style-type: none"> Kontrolle Immunantwort modulieren Fkt. von T-/ B-Zellen (z.B. durch Hemmung der AK-Synthese) zytotoxische Eigenschaften gegenüber Virus- und Tumorzellen 	<ul style="list-style-type: none"> akute system. Virusinfektion chron. aktive Virusinfekte (HBV, HCV, CMV, EBV) HIV-Infektion – Frühphase multiples Myelom, Mb. Behcet, CD8+ CLL Blutabnahme-assoziiertes Stress 	<ul style="list-style-type: none"> HIV-Infektion-Finalphase Leukämien, Tumore längerer therapeutische Immunsuppression und Tumor-Chemo/Strahlentherapie im hohen Alter konstitutionell konstitutionell bei ca. 5 % der Bevölkerung
CD4/CD8-Quotient	<ul style="list-style-type: none"> Frühphase system. Virusinfektionen bei akutem Schub einer Autoimmunerkrankung bei T-Zell-Lymphomen (CD4+) fakultativ bei Krankheiten, die mit Gewebeeinfiltration zytotoxischer T-Zellen einhergehen: MS, Enzephalitis, Kardiomyopathien, Leberzirrhose, primär biliäre Zirrhose 	<ul style="list-style-type: none"> Spätphase system. Virusinfektionen HIV-Infektionen chron.-pers. Infektionen (Viren, intrazelluläre Bakterien, Parasiten) idiopathische (non-HIV) CD4+ Lymphozytopenie im höheren Alter und konstitutionell
Aktivierte T-Lymphozyten [CD3+/HLA-DR+] <ul style="list-style-type: none"> Anstieg nach 2-4 Tagen (late marker) charakteristisch für chron./pers. Infektionen, Autoimmunerkrankungen 	<ul style="list-style-type: none"> Virusinfektion, Infektionen mit intrazellulären Erregern und Parasiten bei akutem Schub einer Autoimmunkrankheit Malignome (oft auch Therapieziel bei immunstimulierenden Therapien) T-Zell-Lymphome Organreaktion bei transplantierten Patienten 	
B-Lymphozyten [CD19+] <ul style="list-style-type: none"> Bildung und Freisetzung von Immunglobulinen (AK) nach Antigenkontakt 	<ul style="list-style-type: none"> EBV-Infektion (Frühphase) B-Zell-Lymphome (monoklonal) B-Lymphozytose polyklonal (unklare Genese) 	<ul style="list-style-type: none"> Immundefekte Therapie mit B-Zell-depletierenden Antikörpern (z.B. Rituximab) häufig konstitutionell, ohne Antikörper-Mangel ohne Relevanz
Natürlichen Killerzellen [CD3-/CD56+] <ul style="list-style-type: none"> leiten durch Zellkontakt Apoptose ein Spontanabwehr von Virus- und Tumorzellen 	<ul style="list-style-type: none"> akute system. Virusinfektionen HIV-Infektion NK-Zell-Lymphom (sehr selten) zirkadianer Rhythmus (morgens ansteigend und abends fallend) 	<ul style="list-style-type: none"> Malignome längerer therapeutische Immunsuppression und Tumor-Chemo/Strahlentherapie chron.-pers. Infektionen primäre/sekundäre Immundefekte häufig konstitutionell (v.a. im Alter)

N-GENE-TARGET FAILURE – WAS STECKT DAHINTER?

Seit Beginn der SARS-CoV-2-Pandemie haben labormedizinische Nachweismethoden eine zentrale Rolle bei der Eindämmung des Virus. Der Goldstandard unter SARS-CoV-2-Diagnostiktests ist die reverse Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR), ein molekularer Assay, der die höchste Empfindlichkeit und Spezifität aufweist. Jedoch können Mutationen innerhalb des SARS-CoV-2-Genom die Nachweiseffizienz einzelner Zielgene verringern.

Wie zahlreiche andere Viren weist auch das Coronavirus eine stetige Mutationsrate auf, die zur Entstehung neuer Varianten führt. Treten nun vermehrt Mutationen in den sogenannten „Primer-Regionen“ (= Oligonukleotid, das als Startpunkt für die

Amplifikation dient) auf, kann dies zu einem Verlust bzw. Abschwächung in der Anlagerung des Primers führen und konsekutiv die Vervielfältigung der DNA beeinflussen (Abbildung 2). In mehrere Publikationen wird berichtet, dass z. B. Nucleocapsid (N)-Genmutationen von SARS-CoV-2 die PCR stören und zu falsch-negativen Ergebnissen führen können. Um dieses Problem zu lösen, nutzen Labore mindestens zwei der folgenden SARS-CoV-2-Zielsequenzen (Dual-Target-Strategie): N (Nucleocapsid), E (Envelope), S (Spike), oder ORF1 (Nichtstrukturprotein). Folglich sind falsch negative Gesamtbefunde praktisch ausgeschlossen.

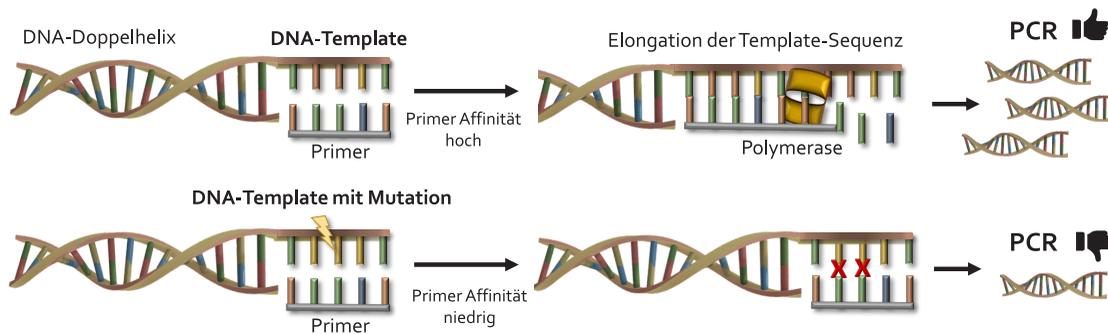


Abbildung 2: Vereinfachte schematische Darstellung einer PCR. *Oben:* Ohne Mutationen ist die Primer-Affinität hoch, die Anlagerung findet statt und die Elongation der Zielsequenz kann erfolgen. Dies führt zu einer erfolgreichen Amplifikation der Erreger-DNA. *Unten:* Mutationen in der Template-Sequenz führen jedoch zu einer verminderten Primer-Affinität, wodurch die Anlagerung beeinflusst und konsekutiv die Amplifikation verringert wird.

QUELLEN

- ¹ Steven H. Swerdlow (2016). blood
- ² Thomas Stübiger (2017). J Lab Med
- ³ Tomasz Szczepanski (2006). J Lab Med
- ⁴ R. Fuchs, P. Staib, T. Brümmendorf (2017). Manual Hämatologie
- ⁵ Mohammad Rubayet Hasan (2021). ASM Journals
- ⁶ Sandra Isabel (2022). Scientific Reports Nature
- ⁷ Liu Cao (2022). Front. Cell. Infect. Microbiol.
- ⁸ Jéssika Cristina Chagas Lesbon (2021). Viruses
- ⁹ Penarrubia (2020) Int J Infect Dis
- ¹⁰ Ziegler (2020) Euro Surveillance



Medizinisches Zentrallabor Altenburg GmbH & Co. KG
und MZLA Versorgungszentrum GmbH

Am Waldessaum 8 04600 Altenburg
Telefon: 03447 - 5688 10
Telefax: 03447 - 5688 20
E-Mail: labor@mzla.de



www.mzla.de



karriere.mzla.de



laborergebnis.mzla.de