



Verbund von Kerninstitutionen für Labormedizin und Pathologie
der Universität und des UniversitätsSpitals Zürich mit Vertretung von
assoziierten USZ-Speziallabors

Klinik für Hämatologie

UniversitätsSpital Zürich
Prof. Dr. M. G. Manz

Klinik für Immunologie

UniversitätsSpital Zürich
Prof. Dr. O. Boyman

Institut für Klinische Chemie

UniversitätsSpital Zürich
Prof. Dr. A. v. Eckardstein

Institut für Klinische Pathologie

UniversitätsSpital Zürich
Prof. Dr. H. Moch

Institut für Neuropathologie

UniversitätsSpital Zürich
Prof. Dr. A. Aguzzi

Institut für Medizinische Genetik

Universität Zürich
Frau Prof. Dr. A. Rauch

Institut für Medizinische Mikrobiologie

Universität Zürich
Prof. Dr. E. C. Böttger

Institut für Medizinische Molekulargenetik

Universität Zürich
Prof. Dr. W. Berger

Institut für Medizinische Virologie

Universität Zürich
Frau Prof. Dr. A. Trkola

Speziallabors Verschiedene Kliniken und Institute

Kontaktpersonen: Dr. med. Regina Reimann, Tel. 044 255 46 92,
E-Mail: regina.reimann@usz.ch; www.neuropathologie.usz.ch



UniversitätsSpital
Zürich

Neues diagnostisches Angebot zur Detektion einer Creutzfeldt-Jakob Erkrankung am Institut für Neuropathologie: die RT-QuIC Methode

Leitung: Prof. Dr. A. Aguzzi,
Institut für Neuropathologie

Autoren: M. Pfammatter, PD Dr. S. Hornemann,
Prof. Dr. H. Budka, Dr. R. Reimann

Bei der echtzeit-schüttelinduzierten Konversion (real-time quaking-induced conversion, RT-QuIC) handelt es sich um eine hoch sensitive (96%) und spezifische (100%) Methode zur Detektion der Creutzfeldt-Jakob Erkrankung (CJK).

Das Institut für Neuropathologie ist seit 1995 Referenzzentrum des BAG zur Durchführung von diagnostischen Untersuchungen von Prionenerkrankungen beim Menschen. Bislang beruht die definitive Diagnose einer CJK auf der Untersuchung von ZNS-Gewebeproben, welche in der Regel post-mortem während der Autopsie entnommen werden.

Dabei wird das Gewebe auf Proteinase K resistentes Prionprotein untersucht sowie histologisch und immunhistochemisch analysiert.

Ante-mortem bietet das Institut für Neuropathologie die Untersuchung von Cerebrospinalflüssigkeit für das Protein 14-3-3 an. Dies ist ein supportiver Biomarker, welcher zu den klinischen Diagnosekriterien einer CJK gezählt wird. Jedoch kann damit keine definitive Diagnose einer CJK gestellt werden.

Mit dem RT-QuIC steht nun eine akkurate und intravitale diagnostische Methode zur Verfügung. Grössere Studien zeigen, dass diese Methode erlaubt eine CJK bereits im frühen Krankheitsverlauf an einer Probe der Cerebrospinalflüssigkeit zu diagnostizieren. Dies kann durchaus als Durchbruch in der Diagnostik von Prionenerkrankungen gewertet werden.

In dieser Methode wird rekombinantes Prionprotein, das als Substrat verwendet wird, mit kleinen Mengen einer auf CJK zu analysierenden Patientenprobe gemischt. Die Probe wird dann mittels mehrerer Replikate auf Mikrotiterplatten unter Schütteln über 100 h bei 42 °C inkubiert. In Proben, die pathologisches Prionprotein enthalten, wird das Substrat in diesem Zeitraum in aggregiertes Protein umgewandelt. Die Amplifikation von Proteinaggregaten wird mittels real-time Fluoreszenz detektiert. Als fluoreszierender Farbstoff dient Thioflavin T, das die neu entstandenen Prionaggregate detektiert. Diejenigen Replikate, die pathologisches Prionprotein aus der Patientenprobe enthalten und somit die Amplifikation von Proteinaggregaten induziert haben, geben ein positives Fluoreszenzsignal, wohingegen Replikate, die kein pathologisches Protein enthalten, negativ bleiben. Positive und negative Replikate werden anhand ihres Fluoreszenzsignals ausgezählt.

Die RT-QuIC Methode wurde am Institut für Neuropathologie erfolgreich etabliert und wir sind derzeit in der Endphase der Validierung. Unseren Einsendern wird diese diagnostische Methode ab Frühjahr 2017 zur Verfügung stehen. Wir werden zu diesem Zeitpunkt weitere praktische Informationen bezüglich Einsendungen geben.

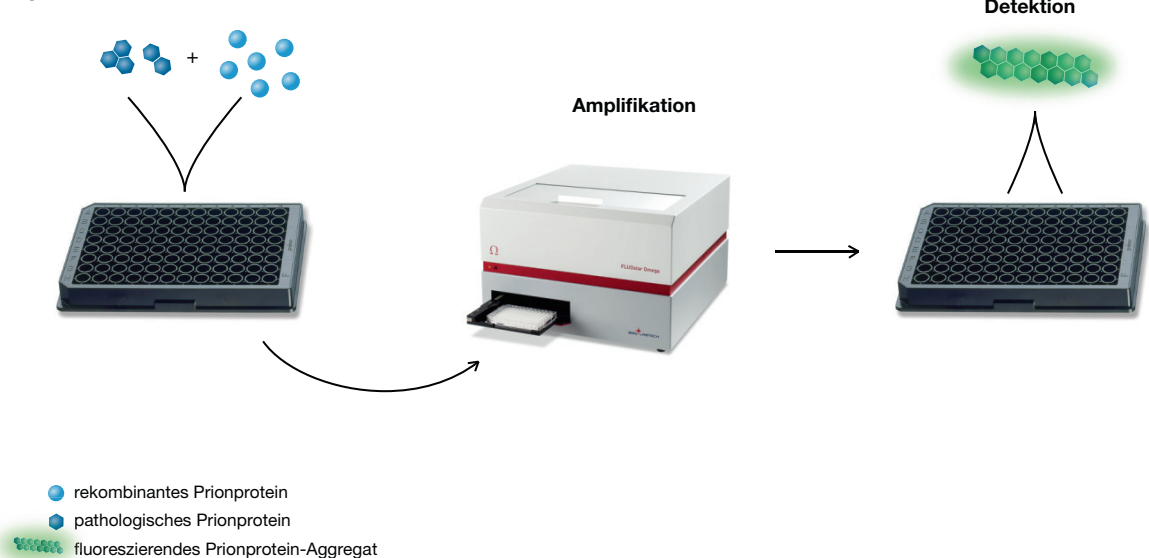
Literatur:

1. G. Zanusso et al., *Advanced tests for early and accurate diagnosis of Creutzfeldt–Jakob disease*, *Nat Rev Neurol* 2016. 12(6):325–33. Doi:10.1038/nrneuro.2016.65.
2. Orrù, C. D. et al. Rapid and sensitive RT QuIC detection of human Creutzfeldt–Jakob disease using cerebrospinal fluid. *mBio* 6, e02451–e02414 (2015).
3. C. Orrù et al., New generation QuIC assay for prion seeding activity, *Prion* 2012. 6:147–52; PMID: 22421206 DOI:10.4161/pri.19430.
4. Ryuichiro Atarashi, Real-time quaking-induced conversion, *Prion* 2011. 5:150–3; PMID:21778820 DOI: 10.4161/pri.5.3.16893.

Für Auskünfte stehen wir Ihnen gerne zur Verfügung:

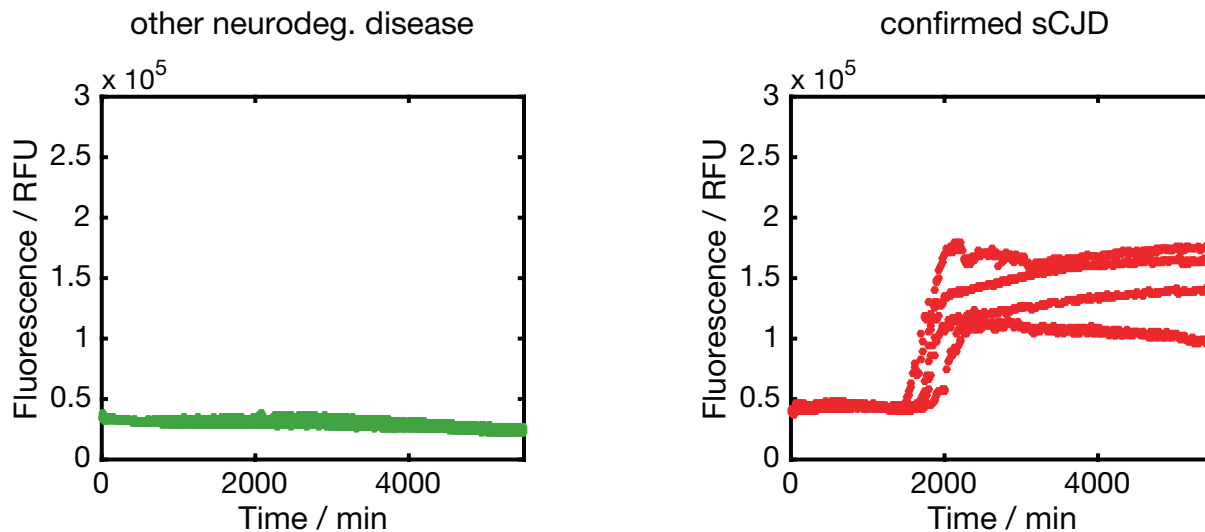
Prof. Dr. A. Aguzzi, Institutsdirektor Neuropathologie (E-Mail: adriano.aguzzi@usz.ch)
 Prof. Dr. H. Budka, Oberarzt Neuropathologie (E-Mail: herbert.budka@usz.ch)
 Dr. R. Reimann, Fachärztin Neuropathologie (E-Mail: regina.reimann@usz.ch)

Prinzip des RT-QuIC Tests



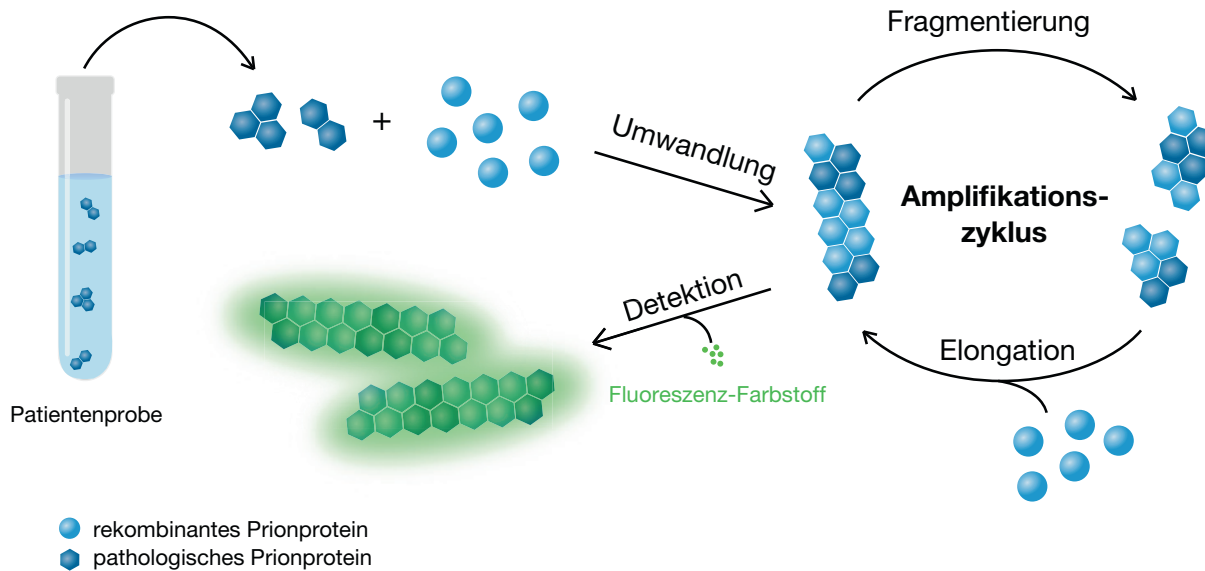
Eine Patientenprobe, die pathologisches Prionprotein enthält, wird mit rekombinanten Prionprotein in einer Mikrotiterplatte gemischt. Die pathologischen Aggregate werden in einem Schüttler unter Erhitzen amplifiziert und können anschliessend mit einem Aggregat-spezifischen Fluoreszenz-Farbstoff detektiert werden.

Beispiele einer CJK-negativen (grün) und einer -positiven CSF-Patientenprobe (rot)



Das Fluoreszenzsignal aller Replika einer CJK-positiven Patientenprobe steigt im Laufe des Tests aufgrund der Neubildung von Prion-Aggregaten signifikant an (rot). In einer CJK-negativen Probe, die kein pathologisches Prionprotein enthält, wird keine Neubildung von Aggregaten induziert und das Fluoreszenzsignal ändert sich nicht (grün).

Prinzip des RT-QuIC Tests



Eine Patientenprobe, die pathologisches Prionprotein enthält, wird mit rekombinantisches Prionprotein gemischt. Pathologische Aggregate werden durch Fragmentierung und Elongation zu einer kritischen Aggregatmasse amplifiziert, die mit einem Aggregat-spezifischen Fluoreszenz-Farbstoff detektiert werden kann.

Methodenumstellungen Steroid-Hormone und alpha-Amanitin

Die Messmethoden für Androstendion, DHEAS, Dihydrotestosteron, 17-alpha-Hydroxyprogesteron und alpha-Amanitin wurden im IKC auf Flüssigchromatographie, gekoppelt an Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS), umgestellt. Vorteile sind die bessere Spezifität, Sensitivität und Präzision der Methode.

Aufgrund der teilweise schlechten Vergleichbarkeit der LC-MS/MS mit den bisherigen Methoden mussten diverse Referenzwertanpassungen vorgenommen werden. Aktuell gelten die folgenden Referenzwerte:

| Analyt | Gültig für | Referenzwert |
|-----------------------------|---|---|
| Androstendion | M F F post-menopausal | 0.90-4.36 nmol/L 0.96-5.65 nmol/L 0.33-2.67 nmol/L |
| DHEAS | M F | 2.2-15.2 µmol/L 1.0-11.7 µmol/L |
| Dihydrotestosteron | M F | 0.47-2.65 nmol/L 0.09-0.91 nmol/L |
| 17-alpha-Hydroxyprogesteron | M F – Follikularphase F – Lutealphase F – postmenopausal | 1.2-7.6 nmol/L 0.4-3.6 nmol/L 1.2-7.6 nmol/L <1.6 nmol/L |

Die Quantifizierungsgrenze für alpha-Amanitin konnte von 1.5 µg/L auf 0.5 µg/L gesenkt werden.

Lipidprofilmessung muss nicht mehr nüchtern erfolgen

Das Institut für Klinische Chemie hat ab dem 13.10.2016 die Empfehlungen zur Präanalytik und die Idealwerte für die Lipidstoffwechselfeldiagnostik gemäss dem aktuellen Konsensuspapier der European Atherosclerosis Society (EAS) und der European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) «Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points»¹ angepasst. Demnach dürfen zur Verbesserung der Patientencompliance und zur Entlastung des Medizinpersonals die Lipidwerte routinemässig auch im nicht-nüchternen Zustand bestimmt werden. Aktuelle Studien zeigen, dass sich die nicht-nüchternen Plasmawerte nur geringfügig und klinisch nicht signifikant von den nüchternen Werten unterscheiden, und somit genauso gut, und im Falle der Triglyceride sogar besser, zur Vorhersage kardiovaskulärer Ereignisse geeignet sind. Patienten sollen aber dazu angehalten werden am Tag der Lipidprofilbestimmung keine fettigen Mahlzeiten (z.B. Fastfood) und direkt vor der Messung keine grossen Mengen Flüssigkeit zu sich zu nehmen. Der Idealwert für Triglyceride und Non-HDL Cholesterin wurde für nicht-nüchtern entnommene Proben entsprechend oben genannter Literatur angepasst. In Zukunft gelten folgende Idealwerte für das nicht-nüchtern gemessene Lipidprofil. Abnormal hohe/tiefe Werte werden entsprechend markiert.

| Parameter | Idealwert | Bisheriger Idealwert |
|---------------------|--------------|----------------------|
| Cholesterin total | < 5 mmol/L | |
| Triglyceride | < 2 mmol/L | < 1.7 mmol/L |
| LDL-Cholesterin | < 3 mmol/L | |
| HDL-Cholesterin | > 1 mmol/L | |
| Non-HDL Cholesterin | < 3.9 mmol/L | < 4 mmol/L |

Die Apolipoproteine B und A1 werden in Zukunft anhand von Idealwerten, anstatt von Referenzwerten wie bisher, klassifiziert und auf dem Befund entsprechend markiert.

| Parameter | Idealwert | Bisheriger Referenzwert |
|-------------------|------------|---|
| Apolipoprotein B | < 1 g/L | f: 0.55 - 1.25 g/L m: 0.55 - 1.4 g/L |
| Apolipoprotein A1 | > 1.25 g/L | f: 1.25 - 2.15 g/L m: 1.1 - 2.05 g/L |

Eine Nüchternblutentnahme wird unter folgenden Bedingungen weiterhin empfohlen:

- Triglyceridwerte im nicht-nüchternen Zustand > 5 mmol/l
- Verdacht auf eine genetisch determinierte Dyslipidämie
- Geplante Therapie mit Medikamenten, welche eine schwere Hypertriglyceridämie, auslösen können (Steroide, Estrogene, Retinsäure)
- Verlaufskontrolle einer Hypertriglyceridämie induzierten Pankreatitis

Literatur:

1. Nordestgaard, B.G., et al., Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Eur Heart J, 2016.

Neues UZL e-Vademekum

In den letzten Jahren gab das Institut für Klinische Chemie zusammen mit der Klinik für Hämatologie in regelmässigen Abständen ein Vademekum in Buchform mit detaillierten Angaben zu den angebotenen Analysen heraus. Infolge der raschen technischen Weiterentwicklungen im Bereich der Labor-diagnostik war diese gedruckte Version aber oft schon nach kurzer Zeit nicht mehr aktuell.

Wir haben uns deshalb entschlossen, in Zukunft auf eine gedruckte Ausgabe des Vademekums zu verzichten und die Informationen elektronisch in Form eines e-Vademekums zugänglich zu machen. Dieser Wechsel erlaubt es uns, die Einträge jeweils zeitnah zu aktualisieren und somit immer auf dem neusten Stand zu halten.

Sie finden die Angaben zu den Analysen neu auf der UZL Homepage (www.uzl.usz.ch) unter der Rubrik: **Fachwissen / UZL Analysen-Auskunftssystem** oder direkt unter dem Link www.uzl-analysen.usz.ch

Generelle Informationen zu Probenversand, Präanalytik und Qualitätsmanagement finden Sie unter den Rubriken: Fachwissen / Organisation, Präanalytik und Qualitätsmanagement.

Um eine gute Lesbarkeit der Informationen auch auf mobilen Geräten sicherzustellen, schaltet die Seite beim Zugriff per Smartphone oder Tablet automatisch auf eine für mobile Geräte optimierte Darstellung um. Bitte beachten sie aber, dass diese Umschaltung nur zuverlässig funktioniert, wenn Sie als mobilen Browser «Chrome» oder «Safari» benutzen.

Der Zugriff aus dem Intranet des USZ ist nur in der Desktop Variante möglich.