



Screening-Labor
Hannover

Informationen für Einsender



Laboruntersuchungen zum
erweiterten Neugeborenen-Screening

Handbuch für die Primärprobengewinnung nach
DIN EN ISO 15189

Stand 2021



Impressum

Dr. med. Dr. rer. nat. Nils Janzen

Facharzt für Laboratoriumsmedizin, Diplom-Biochemiker

Aktualisierte Ausgabe 2021

Hausanschrift: Am Steinweg 11A

30952 Ronnenberg/Benthe

Postanschrift: Postfach 91 10 09

30430 Hannover

Telefon: +49 5108 92163-0 (Zentrale)

Telefax: +49 5108 92163-19

E-Mail: labor@metabscreen.de

Webseiten: www.metabscreen.de, www.screening-labor.de

Wichtige Hinweise

Screening-Untersuchungen dienen der Feststellung von Verdachtsfällen. Sie ersetzen weder andere klinisch-chemische Analysen noch die klinische Diagnostik bei symptomatischen Patienten. Brauchbare Ergebnisse der Screening-Untersuchungen können nur erhalten werden, wenn die Einsender die in diesem Heft geforderte Qualität der Blutproben sicherstellen.

Nach bestem Wissen entsprechen die in diesem Heft gemachten Angaben dem aktuellen Stand des medizinischen und wissenschaftlichen Wissens sowie derer Entwicklung. Dies entbindet die Benutzer nicht von der Pflicht, sich selbst im Einzelfall von der Richtigkeit der hier gemachten Angaben zu überzeugen. Insbesondere haben die Benutzer diagnostische und therapeutische Maßnahmen für jedes Kind und jeden Patienten selbst sorgfältig abzuwägen. Dies gilt besonders in Bezug auf Medikamente, für deren Anwendung stets auch die Berücksichtigung der Herstellerinformationen erforderlich ist. Das Screening-Labor Hannover übernimmt keine Haftung für Irrtümer und Übertragungsfehler bei Schriftstücken. Die Nennung von Produkten und/oder Verfahren stellt keine Empfehlung oder Aussage zu deren Qualität dar. Eine diesbezügliche Haftung wird ausgeschlossen.

Das Neugeborenen-Screening erfolgt entsprechend einer im Bundesanzeiger veröffentlichten Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen auf der Grundlage des Gendiagnostikgesetzes (Anlage 2 der "Kinder-Richtlinie").

Die in diesem Heft verwendeten Berufs- und Funktionsbezeichnungen gelten ohne besondere Kennzeichnung für weibliche, diverse und männliche Personen.

© **Copyright-Hinweis (2021)**: Alle Inhalte dieses Werkes, insbesondere Texte, Fotografien und Grafiken, sind urheberrechtlich geschützt (Copyright). Das Urheberrecht liegt, soweit nicht ausdrücklich anders gekennzeichnet, beim **Screening-Labor Hannover**. Bitte fragen Sie uns, falls Sie die Inhalte dieses Werks verwenden möchten, um unsere ausdrückliche Zustimmung (schriftlich).

Inhalt

Gesetzliche Grundlagen, Richtlinien und Empfehlungen	1
Allgemeine Informationen zum Screening-Labor Hannover	3
Aufgaben des Screening-Labors Hannover	4
Neugeborenen-Screening – prä- und postanalytischer Teil.....	8
Einwilligungserklärung	8
Zeitpunkt der Blutentnahme	9
Technik der Blutabnahme	10
Testkarte.....	11
Vorgedrucktes Einsendeformular.....	14
Versand der Testkarten an das Labor	16
Dokumentation des Neugeborenen-Screenings und Verantwortlichkeit.....	17
Befundübermittlung an die Einsender/Anforderung von Kontrollen	18
Abrechnung	20
Datenschutz.....	21
Störungen / Fehlerquellen des Neugeborenen-Screenings	22
Allgemeines zu den Labormethoden.....	24
Zielkrankheiten des Screenings	27
Angeborene (konnatale) Hypothyreose	27
Adrenogenitales Syndrom vom Typ des 21-Hydroxylase-Mangels.....	30
Biotinidase-Mangel.....	32
Galaktosämie	34
Phenylketonurie (PKU) und Hyperphenylalaninämie (HPA)	36
Ahornsirupkrankheit (<i>Maple sirup urine disease, MSUD</i>).....	38
Störungen der β -Oxidation der Fettsäuren	40
Glutarazidurie Typ 1	42
Isovalerialanzidämie.....	43
Tyrosinämie Typ I	44
Schwere kombinierte Immundefekte (SCID).....	45
Sichelzellkrankheit (SCD)	47
5q-assoziierte spinale Muskelatrophie (SMA)	48
Screening auf Mukoviszidose (Cystische Fibrose, CF).....	49
Ergänzende Zweittests zu den Zielkrankheiten des Neugeborenen-Screenings	52
Adrenogenitales Syndrom (AGS)	52
Ahornsirupkrankheit (<i>maple sirup urine disease, MSUD</i>)	52
Isovalerialanzidämie (IVA), Pivalinsäure-haltige Antibiotika, 2-Methylbutyryl-Dehydrogenase-Mangel (MBDH).....	52
Weitere selektive bzw. das Neugeborenen-Screening ergänzende Untersuchungen	53
Carnitin/Acylcarnitine.....	53
Aminosäuren	53
Steroidprofil.....	53
Succinylaceton-Verlaufsbestimmung / Nitisinon (NTBC).....	54
Organoazidopathien.....	55
Defekte des Harnstoffzyklus.....	55
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (G6PD).....	56
Studien	59
Ausblick.....	60

Gesetzliche Grundlagen, Richtlinien und Empfehlungen

Die Analytik und die Interpretation von Vorsorgeuntersuchungen zur Früherkennung angeborener Stoffwechseldefekte, endokrinen Störungen und Defekten des Blutsystems, Immunsystems und des neuromuskulären Systems unterliegen einer ständigen Verbesserung und Erweiterung. Die wissenschaftliche und technische Entwicklung erlaubt die Einbeziehung immer weiterer Gesundheitsstörungen in den Früherkennungsprozess. Nicht in allen Fällen erfüllen sich jedoch die mit der Aufnahme einer Screening-Untersuchung verbundenen Erwartungen oder Hoffnungen.

Die von der Fachwelt und der Bevölkerung gestellten Anforderungen an ein Screening-System entwickeln sich ständig. Aus diesem Grund haben wissenschaftliche Fachgesellschaften, Krankenkassen oder Gesetzgeber in vielen Industrieländern Richt- oder Leitlinien veröffentlicht, um eine gewisse an wissenschaftlichen Ergebnissen ausgerichtete Einheitlichkeit zu erreichen. In einigen Staaten bestehen spezielle gesetzliche Regelungen.

In Deutschland unterliegt das Neugeborenen-Screening zur Früherkennung angeborener Stoffwechselstörungen dem Gendiagnostik-Gesetz (GenDG) (Gesetz über genetische Untersuchungen beim Menschen). Dementsprechend gelten die Bestimmungen des GenDG vom 31. Juli 2009 (BGBl. I S. 2529, 3672), letzte Änderung vom 20. November 2019 (BGBl. I S. 1626). Nach § 3 dieses Gesetzes handelt es sich beim Neugeborenen-Screening um eine genetische Reihenuntersuchung, näher geregelt in § 16.

Für das Neugeborenen-Screening in Deutschland sind weiterhin die Richtlinie des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 6. Lebensjahres, sog. Kinder-Richtlinie, Anlage 3 „Erweitertes Neugeborenen-Screening“ (Bundesanzeiger AT 15.03.2019 B2) maßgebend. Gemäß dieser Richtlinie ist der Anspruch der Neugeborenen auf die Früherkennung eines Spektrums von 14 Krankheiten festgeschrieben. In anderen Industriestaaten sind teilweise andere Zielkrankheiten des Screenings definiert. Sowohl das Gendiagnostik-Gesetz als auch die Richtlinie formulieren Qualitätsansprüche an die die Untersuchungen erbringenden Ärzte und Laboratorien.

Die zuvor erstellte Richtlinie zur „Organisation und Durchführung des Neugeborenen-Screenings auf angeborene Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien in Deutschland“ der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin und anderer wissenschaftlicher ärztlicher Fachgesellschaften haben damit ihre Bedeutung nicht vollständig verloren (vergl. Monatsschrift für Kinderheilkunde 150 (2002), Seite 1424 ff). Wichtige Details beziehen sich auf das Screening als Gesamtprozess und auf die Abklärung positiver Befunde (Tracking).

Zum Vergleich sei auf die britischen und US-amerikanischen Programme verwiesen:

<http://newbornbloodspot.screening.nhs.uk/>

<http://genes-r-us.uthscsa.edu/>

In verschiedenen Industriestaaten sind Hörscreening und Stoffwechselscreening organisatorisch miteinander verbunden. Dies trifft allerdings für Deutschland nicht zu.

Zielkrankheiten des Neugeborenen-Screenings entsprechend der „Kinder-Richtlinie“

1. Primäre Hypothyreose
2. Adrenogenitales Syndrom (AGS)
3. Biotinidasemangel
4. Galaktosämie
5. Phenylketonurie (PKU) und Hyperphenylalaninämie (HPA)
6. Ahornsirupkrankheit (MSUD)
7. Medium-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (MCAD)
8. Long-Chain-3-OH-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (LCHAD)
9. Very-Long-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (VLCAD)
10. Carnitinzyklusdefekte
 - a) Carnitin-Palmitoyl-Transferase-I-Mangel (CPT-I)
 - b) Carnitin-Palmitoyl-Transferase-II-mangel (CPT-II)
 - c) Carnitin-Acylcarnitin-Translokase-Mangel
11. Glutarazidurie Typ I (GA I)
12. Isovalerialanazidämie (IVA)
13. Tyrosinämie Typ I
14. Schwere kombinierte Immundefekte (SCID)
15. Sichelzellkrankheit
16. 5q-assoziierte spinale Muskelatrophie (SMA)

Die aktuelle Kinderrichtlinie unterscheidet zwischen dem „erweiterten Neugeborenen-Screening“ mit den Punkten 1-14 und dem „Screening auf Mukoviszidose (Punkt 17)“. Dies hat vor allem Auswirkungen in der Durchführung durch Hebammen (siehe S. 16) sowie der Zeit, die dem Labor für die Durchführung der Untersuchung zugebilligt wird.

17. Mukoviszidose

Weitere, ggf. erfassbare, aber in der Kinder-Richtlinie nicht aufgeführte angeborene Krankheiten sind u. a.:

- Propion- und Methylmalonazidurie
- Cobalaminstoffwechsel-Defekte
- Multipler Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (Glutarazidurie Typ II)
- β -Ketothiolase-Mangel
- HMG-CoA-Lyase-Mangel
- Methylcrotonyl-CoA-Carboxylase-Mangel
- Malonazidurie
- Isobutyrylglycinurie
- Citrullinämie, Argininosuccinatlyase-Mangel
- Carnitintransporter-Defekt
- Glucose-6-P-Dehydrogenase-Mangel
- Hämoglobinopathien

Solche Untersuchungen werden teils im Rahmen eines selektiven Screenings für symptomatische Neugeborene und Säuglinge, teils für internationale Auftraggeber und in Studien (s. Seite 55) durchgeführt. Die Neuaufnahme von Zielkrankheiten in das allgemeine

Neugeborenen-Screening erfordert nach GenDG § 16.2 die Zustimmung der Gendiagnostik-Kommission des Robert-Koch-Instituts. Bei individuellem Bedarf ist eine gezielte Untersuchung jedoch unabhängig davon durchführbar.

Allgemeine Informationen zum Screening-Labor Hannover

Das Screening-Labor Hannover ist ein auf die Erkennung angeborener Krankheiten, insbesondere pädiatrischer Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien, spezialisiertes ärztliches Laboratorium. Es ist eine unabhängige, private ärztliche Gemeinschaftspraxis, die nicht formell in eine Organisation oder Einrichtung eingebunden ist. Der Einzugsbereich des Labors liegt in verschiedenen Bundesländern mit dem Schwerpunkt Niedersachsen. Es werden auch Blutproben aus dem Ausland bearbeitet. Laboruntersuchungen werden nur zu den regulären Dienstzeiten durchgeführt. Notfalluntersuchungen werden nicht angeboten.

Praxisbetreiber und Praxissitz

Dr. med. Dr. rer. nat Nils Janzen,
Facharzt für Laboratoriumsmedizin, Dipl.-Biochemiker

Postfach-Anschrift: Postfach 91 10 09, 30430 Hannover

Haus- und Lieferanschrift: Am Steinweg 11A, 30952 Ronnenberg/Benthe

Email: labor@metabscreen.de (weitere auf der Webseite)

Webseite: www.metabscreen.de; www.screening-labor.de

Zuständige Ärztekammer: Ärztekammer Niedersachsen, Bezirksstelle Hannover

Berufsordnung der Ärztekammer Niedersachsen (www.aekn.de)

Sämtliche Arztbezeichnungen wurden in der Bundesrepublik Deutschland verliehen.

Zuständige Kassenärztliche Vereinigung: KV Niedersachsen, Bezirksstelle Hannover www.kvn.de

Akkreditierung: Das Screening-Labor Hannover ist akkreditiert durch:

Deutsche Akkreditierungsstelle (DAkKS) GmbH D-ML-19642-02-00

Die regelmäßige Überwachung erfolgt durch die Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAkKS).

Aufgaben des Screening-Labors Hannover

Das Screening-Labor Hannover ist auf die Erkennung angeborener Krankheiten, insbesondere pädiatrischer Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien spezialisiert. Es untersucht zurzeit überwiegend Blutproben, die Neugeborenen in den ersten Lebenstagen entnommen werden. Diese werden auf speziellem Filterpapier angetrocknet eingeschickt. Das Screeningprogramm umfasst alle in der Kinder-Richtlinie genannten angeborenen Krankheiten. Darüber hinaus werden individuelle Untersuchungen angeboten. Bestimmt werden Marker wie die Konzentrationen von Hormonen, Stoffwechselprodukten, Enzymaktivitäten und mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) vervielfältigter DNA-Abschnitte.

Das Screening-Labor Hannover analysiert die Blutproben, die in Kliniken und Arztpraxen oder von freiberuflichen Hebammen im Auftrag von Ärzten entnommen wurden. Die verantwortlichen Ärzte übernehmen die Aufklärung sowie die Dokumentation der Einwilligung der Sorgeberechtigten vor Durchführung der Screeninguntersuchung. Das Screening-Labor Hannover stellt ein geeignetes Informationsblatt zur Verfügung. Die Einsender erhalten die Untersuchungsergebnisse und übermitteln sie an die Sorgeberechtigten. Die Einsender sind zuständig für das Ergreifen der notwendigen Maßnahmen beim Kind im Falle eines kontrollbedürftigen oder pathologischen Ergebnisses. Das Screening-Labor Hannover benennt im Bedarfsfall geeignete ärztliche Spezialisten. Da einige der angeborenen Störungen sich bereits in den ersten Lebenstagen zu schweren Krankheitsbildern entwickeln, misst das Screening-Labor Hannover der Logistik des Probentransportes und der Geschwindigkeit der Analyse besondere Bedeutung bei.

Durch Entwicklung neuer Methoden und wissenschaftliche Auswertung der im Neugeborenen-Screening gewonnenen Daten trägt das Screening-Labor Hannover in Zusammenarbeit mit anderen national und international tätigen Institutionen zur Evaluation und Weiterentwicklung der Screening-Programme bei. Eine besonders enge Zusammenarbeit besteht mit der Abteilung für Stoffwechselmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover (Leiter: Prof. Dr. med. A. Das)

Struktur des Labors

Das GenDG § 5 macht die Erlaubnis zur Vornahme von gendiagnostischen Analysen von einer Akkreditierung des Labors abhängig. Diese setzt eine entsprechende Ausstattung sowie die Beschäftigung qualifizierter Mitarbeiter und die Durchführung der Untersuchungen nach anerkanntem Stand von Wissenschaft und Technik ebenso wie eine erfolgreiche interne und externe Qualitätssicherung voraus.

Das Screening-Labor Hannover ist ein fachärztlich geleitetes akkreditiertes medizinisches Labor, das die im GenDG genannten Anforderungen sowie die in der Richtlinie genannten Strukturmerkmale erfüllt.

§25 Kinder-Richtlinie

Anforderungen an die Labore

(1) Zur Optimierung der internen Qualitätssicherung und der Logistik des Screenings sowie der Wirtschaftlichkeit ist eine Mindestzahl von 50.000 untersuchter Erst-Screeningproben innerhalb eines Jahres und in einem Labor Voraussetzung für die Teilnahme am Screening

(2) Das Labor muss für die durchzuführenden Untersuchungen mit den entsprechenden technischen Einrichtungen ausgestattet sein und über qualifiziertes Personal verfügen. Diese organisatorisch-apparativen Voraussetzungen gelten mit einer Akkreditierung für medizinische Laborleistungen durch die Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS GmbH) als belegt.

(3) Die Genehmigung ist unter der Auflage zu erteilen, dass das Labor, in dem die Laborleistungen erbracht werden sollen, die folgenden Leistungen erbringt: Versendung der Filterpapierkarten an die Leistungserbringer, für die das Labor Laborleistungen nach dieser Richtlinie erbringt und Erstellung und vierteljährliche Aktualisierung eines Verzeichnisses der nächst erreichbaren Zentren mit pädiatrischen Stoffwechselspezialisten oder Endokrinologen mit 24-stündiger Erreichbarkeit zur Information nach § 22 Abs. 1.

Der Laborbereich gliedert sich in ein Routinelabor, in dem die Proben des Neugeborenen-Screenings bearbeitet werden, und in ein Entwicklungslabor zur Entwicklung bzw. Evaluierung von Methoden sowie zur Durchführung individueller diagnostischer Analysen. Für jedes Labor gibt es eine wissenschaftliche Laborleitung. Beurteilung der Analysen und Befunderstellung werden durch die in der Praxis tätigen Laborärzte vorgenommen. Die Ergebnisse der Analysen werden im Hinblick auf die wissenschaftliche Literatur ärztlich evaluiert. Eine Fachärztin ist regelmäßig mit dem Tracking beschäftigt, dem Nachverfolgen von auffälligen Befunden, bis entweder durch Konfirmationsdiagnostik eine klare klinische Diagnose festgelegt (und eine Therapie und Betreuung eingeleitet) wurde oder ein Krankheitsverdacht ausgeschlossen werden konnte. Das Tracking dient der Optimierung der Laboranalytik, es entbindet die „verantwortliche ärztliche Person“ nicht von im GenDG formulierten Pflichten, bzw. den „verantwortlichen Einsender“ nicht von der Durchführungverantwortung entsprechend § 19 der Kinder-Richtlinie.

Die Aufgaben der Verwaltung bestehen in der Datenerfassung, der Abrechnung und der Buchführung. Das EDV-System wird durch einen IT-Mitarbeiter des Labors, freie Mitarbeiter sowie einer Software-Firma betreut. Zusätzlich ist ein betrieblicher Datenschutzbeauftragter und zur Etablierung und Fortentwicklung des Qualitätsmanagement-Systems ein Qualitätsmanagement-Beauftragter (QMB) bestellt worden.

Qualitätsmanagement-System

§26 Kinder-Richtlinie

Qualitätssicherung

(1) Die eindeutige Zuordnung der Proben und der Ergebnisse ihrer Untersuchung zu dem jeweiligen Neugeborenen ist sicherzustellen.

(2) Die berufsrechtlichen Anforderungen an die persönliche Erbringung von Laborleistungen, insbesondere für die regelmäßige Überprüfung der ordnungsgemäßen Laborgerätewartung und -bedienung durch das Laborpersonal, die persönliche Erreichbarkeit und die persönliche Überprüfung der Plausibilität der erhobenen Laborparameter nach Abschluss des Untersuchungsganges im Labor und § 5 GenDG sind zu beachten. Auf die Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen wird hingewiesen.

(3) Es ist sicherzustellen, dass am Tage des Probeneingangs die Laboruntersuchung durchgeführt und pathologische Befunde übermittelt werden. Die Laborleistung ist zumindest von Montag bis Samstag vorzuhalten.

Das Screening-Labor Hannover erfüllt die in der Richtlinie genannten Qualitätskriterien. Das Qualitätsmanagement-System des Screening-Labors Hannover entspricht den Anforderungen der DIN EN ISO 15189:2014.

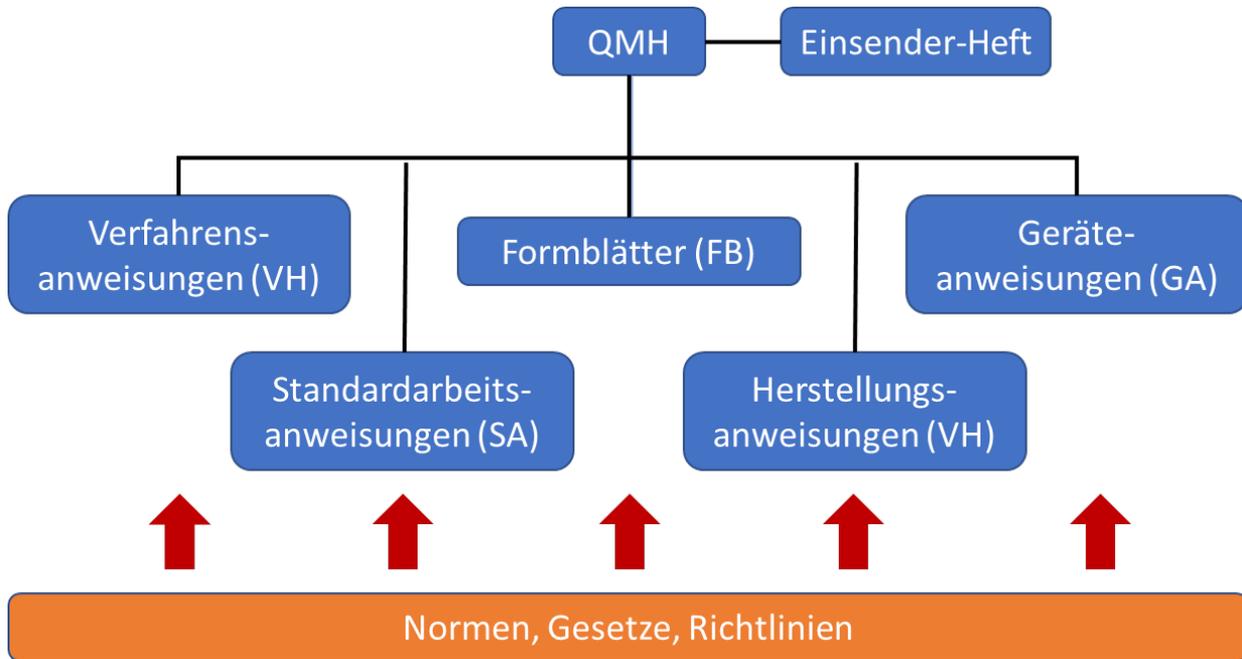


Abb.: Qualitätsmanagement-System

Die Kontrolle der Qualität der Laborleistungen ist Bestandteil des Qualitätssicherungssystems. Sie obliegt für den praktischen Teil der Leitung des Routinelabors, die Gesamtverantwortung verbleibt bei der Praxisleitung. Sie umfasst die interne und externe Qualitätssicherung und der Teilnahme an externen Ringversuchen sowie Interlabor-Vergleichen.

Für die Qualitätspolitik der Laborpraxis gelten folgende Grundsätze:

Die Praxisleitung ist für die Sicherstellung der Qualität verantwortlich. Ein Qualitätsmanagement-System wurde implementiert, um eine wirksame Lenkung und Verbesserung der Dienstleistungsqualität während sämtlicher Phasen der Analytik zu gewährleisten. Über das Erreichen messbarer Qualitätsziele und statistische Auswertungen wird die Leistung des Labors bewertet.

Der Rahmen der Qualitätssicherung wird von der ärztlichen Leitung vorgegeben. An der Gestaltung und der Umsetzung der detaillierten Qualitätsforderungen sind alle davon betroffenen Mitarbeiter beteiligt. Für das Labor wurde ein Qualitätsmanagement-Handbuch (QMH) erarbeitet.

Die Grundsätze der Qualitätspolitik gelten für alle Leistungen, die das Labor anbietet oder künftig anbieten wird:

- Der Leistungsstandard der Laborpraxis ist geprägt von dem Ziel, die Qualität auf allen Stufen der Analytik optimal zu gestalten. Hierzu gehören nicht nur eine optimale Analytik und Beratung, sondern auch Einflussnahme auf die Einhaltung der präanalytischen Bedingungen seitens der Einsender.
- Laborintern stehen möglichst kurze Bearbeitungszeiten (in mehr als 90% der Fälle maximal 12 Stunden), Einsatz der besten Methodik und Erstellung klarer Befunde im Vordergrund.
- Es werden ausschließlich Geräte eingesetzt, deren Funktionstüchtigkeit regelmäßig durch Wartungsverträge oder von den Mitarbeitern durch Kalibrierung und den Einsatz von Referenzmaterial überprüft werden.

- Das Laborpersonal ist für die Bearbeitung der Laboruntersuchungen qualifiziert und nimmt regelmäßig an Fortbildungsveranstaltungen teil. Es werden Aufzeichnungen darüber geführt.
- Für die Durchführung interner Audits werden Mitarbeiter beauftragt, die entsprechend qualifiziert und von den zu überwachenden Arbeitsprozessen unabhängig sind. Sie berichten der Praxisleitung über ihre Feststellungen.
- Anfragen und Beschwerden von Einsendern werden umgehend und vollständig bearbeitet, durch die regelmäßige Auswertung der Beschwerden können systematische Probleme erfasst und in Rücksprache mit den Einsendern gelöst werden.
- Mit Hilfe regelmäßiger interner Fortbildungsveranstaltungen und regelmäßiger Überprüfung der internen und externen Qualitätskontrollen sollen Fehler in der Auftragsbearbeitung vermieden werden.

Inhaber und Mitarbeiter der Laborpraxis sind verpflichtet, die im Labor allgemein üblichen Verhaltensregeln und die Forderungen des Qualitätssicherungs-Systems einzuhalten.

Neugeborenen-Screening – prä- und postanalytischer Teil

Einwilligungserklärung

Das GenDG § 9 setzt für die Durchführung genetischer Untersuchungen, zu denen das Screening gerechnet wird, eine umfassende ärztliche Aufklärung der betroffenen Person (beim Neugeborenen-Screening der Sorgeberechtigten) sowie nach § 8 eine ausdrückliche und schriftliche Einwilligung sowie eine angemessene Bedenkzeit voraus.

§16 Kinder-Richtlinie

(1) Die Eltern (Personensorgeberechtigten) des Neugeborenen sind vor der Durchführung des Screenings eingehend und mit Unterstützung eines Informationsblattes entsprechend Anlage 3 durch den verantwortlichen Arzt (§ 19 Absatz 1) aufzuklären. Wird die Geburt durch eine Hebamme oder einen Geburtspfleger geleitet, kann die Aufklärung durch diese erfolgen, wenn die Rückfragemöglichkeit an einen Arzt gewährleistet ist. Die Inhalte der Aufklärung sind vor der Untersuchung zu dokumentieren.

(2) Zu Anforderungen an die Inhalte der Aufklärung gilt § 9 GenDG. Die Aufklärung umfasst insbesondere Zweck, Art, Umfang und Aussagekraft der genetischen Untersuchung. Die Genodiagnostik-Kommission kann diese Inhalte in Richtlinien nach § 23 Absatz 2 Nr. 3 GenDG konkretisieren.

(3) Nach der Aufklärung ist eine angemessene Bedenkzeit bis zur Entscheidung einzuräumen. Die Personensorgeberechtigten können auf die Bedenkzeit verzichten, so dass unmittelbar nach der Aufklärung die Einwilligung eingeholt und Blut abgenommen werden kann. Die Einwilligung umfasst den Umfang der genetischen Untersuchung und den Umfang der mit der Filterpapierkarte weiterzugebenden personenbezogenen Daten. Die Einwilligung hat gegenüber der Person zu erfolgen, die die Aufklärung nach Absatz 1 durchgeführt hat und ist mit der Unterschrift zumindest eines Elternteils (Personensorgeberechtigten) zu dokumentieren. Die Eltern erklären mit ihrer Einwilligung zum Screening, dass personenbezogene Daten an die Labore übermittelt werden dürfen. Die Einwilligung kann jederzeit schriftlich oder mündlich mit Wirkung für die Zukunft gegenüber der aufklärenden Person widerrufen werden.

Die Aufklärung ist nach §7 GenDG eine ärztliche Aufgabe. Sie erfolgt mündlich, die Aushändigung eines Informationsblattes hat unterstützenden Charakter. Aus Beweisgründen muss dokumentiert werden, dass ein persönliches Aufklärungsgespräch stattgefunden hat. Die Aufklärung muss eingehend sein. Eine Beschreibung des Nutzens des Screenings für das Neugeborene einerseits und eventuell vorhandener Risiken andererseits gehört dazu. Eltern haben Anspruch auf einen allgemeinen Überblick über die Zielkrankheiten des Screenings und deren Behandlungsmöglichkeiten.

Elterninformationsblätter in deutscher und englischer Sprache sind auf unserer Homepage erhältlich, ggf. werden weitere Sprachen zur Verfügung gestellt. Wird ein Informationsblatt zur Dokumentation verwendet, so verbleibt dieses Exemplar bei den Entbindungs- oder Patientenunterlagen, eine Kopie sollte den Eltern ausgehändigt werden.

Zeitpunkt der Blutentnahme

§20 Kinder-Richtlinie

(1) Der optimale Entnahmezeitpunkt ist das Alter von 48 bis 72 Lebensstunden. Die Blutprobe soll nicht vor der vollendeten 36. und nicht nach der 72. Lebensstunde entnommen werden. In diesem Zeitfenster versäumte Probenentnahmen müssen unverzüglich nachgeholt werden.

(2) Bei Entlassung vor vollendeten 36 Lebensstunden oder Verlegung soll eine erste Probe entnommen werden. Ein früherer Untersuchungszeitpunkt als 36 Lebensstunden erhöht das Risiko von falsch-negativen und falsch-positiven Befunden. Bei Entlassung vor 36 Lebensstunden müssen die Eltern (Personensorgeberechtigten) daher über die Notwendigkeit einer termin-gerechten zweiten Laboruntersuchung informiert werden.

(3) Die erste Probenentnahme soll vor einer Transfusion, Kortikosteroid- oder Dopamin-therapie durchgeführt werden.

(4) Bei sehr unreifen Neugeborenen (Geburt vor der 32. Schwangerschaftswoche) muss außer dem Erstscreening nach Absatz 1 ein abschließendes Zweitscreening in einem korrigierten Alter von 32 Schwangerschaftswochen erfolgen.

Ein Zeitfenster zwischen der 48. und 72. Stunde ist für die Blutgewinnung optimal. Dies gilt auch für Blutentnahmen zu Hause oder in einer Arztpraxis. Es gibt mehrere Gründe für die Durchführung der Punktion möglichst kurz nach der 48. Stunde.

Bei verschiedenen angeborenen Krankheiten kann eine Stoffwechsellentgleisung mit schweren Folgen für die spätere Entwicklung bereits vor Ende der ersten Lebenswoche auftreten. Dies gilt für das adrenogenitale Syndrom, die Störungen der Fettsäureverwertung, die Ahornsirupkrankheit und die Galaktosämie. Hier ist eine möglichst frühe Aufdeckung des Stoffwechseldefektes u. U. lebensrettend. Aber auch bei anderen Krankheiten wie der Hypothyreose oder der PKU ist eine möglichst früh einsetzende Therapie sehr erwünscht.

Sonderfälle:

- Entlassung oder Verlegung vor der 36. Lebensstunde: Hier sind entsprechend der Richtlinie zwei Blutproben erforderlich. Die erste in der Entbindungsklinik und eine zweite in der Zeit zwischen der 36. und 72. Lebensstunde ambulant oder in der weiterbehandelnden Klinik. Der Grund für die Beibehaltung dieser oft als belastend empfundenen Regelung liegt in der Gefahr des Vergessens des Screenings, wenn die Verantwortung für ein Neugeborenes wechselt. Ein Teil der angeborenen Stoffwechselstörungen kann auch bei sehr früher Blutgewinnung erkannt werden. Im Falle der Verweigerung einer den offiziellen Empfehlungen entsprechenden Untersuchung durch die Eltern liegt auch bei schriftlicher Dokumentation im Falle einer nicht aufgedeckten Stoffwechselkrankheit ein hohes Haftungsrisiko. Dieses liegt bei der verantwortlichen Entbindungseinrichtung, der verantwortlichen ärztlichen Person, oder auch bei einer Hebamme, die eine Entbindung eigenverantwortlich vornimmt.
- Frühgeborene: Das Screening für Frühgeborene erfolgt zum allgemein empfohlenen Zeitpunkt (36.-72. Lebensstunde), bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter kleiner als 32 Wochen ist ein Zweitscreening erforderlich im korrigierten Alter von 32 Schwangerschaftswochen.

- Therapie: Eine erste Blutprobe ist, unabhängig vom Alter, vor Transfusion, Kortikosteroid- oder Dopamintherapie zu entnehmen. Eine spätere Wiederholung des Screenings ist bei Erstscreening vor der 36. Lebensstunde erforderlich.
- Wochenende, Feiertage: Bei der Auswahl des Tages der Blutentnahme sollten auch die Umstände des Probentransportes bedacht werden. Wegen der Instabilität einiger Bestandteile sollte man das Blut möglichst nicht unmittelbar vor Doppelfeiertagen oder besonders langen Wochenenden in die Post geben. In solchen Fällen ist es besser, die Blutentnahme entweder zu verschieben oder die termingerecht entnommene Blutprobe bis zum nächstmöglichen Versand trocken im Kühlschrank aufzubewahren. Freitags versandte Proben erreichen jedoch meist am Samstag das Labor und können dort bereits bearbeitet werden. Es ist wichtig, einen Post-Dienstleister zu wählen, der die kürzesten Transport- und Lieferzeiten bietet, dies ist zumeist die durch die Deutsche Post AG gewährleistet. Hierfür ist der Einsender/Veranlasser verantwortlich.

Technik der Blutabnahme

§21 Kinder-Richtlinie

(1) Bei der Probengewinnung wird natives Venen- oder Fersenblut entnommen, auf speziell dafür vorgesehenes Filterpapier (Filterpapierkarte) aufgetropft und bei Raumtemperatur getrocknet. Die Berechtigung zur Blutentnahme richtet sich nach dem Berufsrecht des jeweiligen Leistungserbringers.

(2) Die Probenentnahme, die Angaben zum Neugeborenen und das Datum der Versendung der Blutprobe sind auf der Filterpapierkarte gemäß Anlage 4 und in geeigneter Weise auch im Kinderuntersuchungsheft zu dokumentieren, um die Überprüfung der erfolgten Blutentnahme im Rahmen der U2-Früherkennungsuntersuchung zu ermöglichen.

(3) Durch Festlegung geeigneter Maßnahmen ist die eindeutige Probenzuordnung zum Neugeborenen sicher zu stellen.

(4) Die Filterpapierkarte ist an einen zur Durchführung der notwendigen Laborleistungen nach § 23 berechtigten Arzt zu senden.

(5) Das Entnahme-Datum soll zugleich Proben-Versand-Datum sein.

(6) Die Ablehnung des Screenings oder der Tod des Neugeborenen vor einer möglichen ersten Blutentnahme nach § 20 sind auf leeren Filterpapierkarten (Leerkarte) zu dokumentieren und an das Screening-Labor zu senden.

Die so genannte „Leerkarte“

Das Versenden von „Leerkarten“, bzw. Einsendebögen ohne Filterkarte hat die vollständige Erfassung aller Neugeborenen im Screeningprozess zum Ziel. Es ist ein Notbehelf und ersetzt die möglichst vollständige Einbeziehung aller Neugeborenen in die termingerechte Blutentnahme nicht. Eltern lassen nach zuerst bestehender Ablehnung häufig doch noch das Screening vornehmen, um gesundheitliche Nachteile für das Kind zu vermeiden. Die „Leerkarten“ sollen bei Ablehnung der Frühentnahme bei frühzeitiger Entlassung aus einer Entbindungsklinik (sog. ambulante Entbindung in der Klinik) ins Labor eingesandt werden. Das Screening-Labor gleicht die „Leerkarten“ mit den später eintreffenden Einsendungen ab. Es schreibt den Einsender der „Leerkarten“ nach einigen Tagen an, wenn keine Probe des Kindes eintrifft, ohne damit die Verantwortung für das Screening zu übernehmen.

Qualität der Blutprobe

Die Qualität der Blutprobe ist entscheidend für die Qualität der Untersuchungsergebnisse (vgl. aktuelle Angaben Webseite www.metabscreen.de, www.screening-labor.de).

Geeignet sind:

- Kapillarblut
- Venenblut

Nicht geeignet sind:

- Nabelschnurblut
- EDTA- und Citratblut

Praktische Durchführung der Fersenpunktion

- Erhöhung der Hauttemperatur einfach und wirkungsvoll: Fuß mit einem 40 bis 42°C warmen feuchten Tuch für 5 Minuten umwickeln. Nicht empfohlen werden hyperämischernde Salben.
- Kind möglichst aufrecht im Arm halten. Das erhöht die Blutfülle in der herabhängenden Ferse.
- Desinfektion der Haut. Die Ferse mit einem sterilen Tupfer abwischen, der mit 70 bis 80-prozentigem Alkohol getränkt ist. Vor der Punktion sorgfältig trocknen lassen. Nicht geeignet sind Händedesinfektionsmittel. Sie enthalten Substanzen, die die Analysen stören könnten.
- Punktieren: Nur innerer oder äußerer Fersenrand sind zur Punktion geeignet. Ferse gut mit der Hand fixieren. Punktieren der Ferse mit einer Sicherheitslanzette, die auf Grund ihrer Konstruktion ein zu tiefes Einstechen verhindert, um die Gefahr der Verletzung des Fersenbeinknochens zu minimieren.

Entscheidend ist die Auswahl einer gut geeigneten Lanzette. Solche mit breiter Schnittfläche sind besser geeignet als spitze. Gut geeignet sind Einmalgeräte, die konstruktionsbedingt eine schneidende Bewegung mit einer Art Miniskalpelle ausführen. Sie verursachen weniger Schmerzen und eröffnen mehr Kapillaren. Dies erleichtert die Blutgewinnung sehr. Entsprechende Lanzetten sind im Handel erhältlich. Das Screening-Labor schlägt Ihnen auf Nachfrage geeignete Produkte vor.

Entsorgungshinweis

Für die Punktion verwendete spitze und scharfe Gegenstände müssen sicher umschlossen entsorgt werden, so dass eine Verletzung Dritter ausgeschlossen ist. Abfälle, die bei der Blutgewinnung für das Neugeborenen-Screening anfallen, gelten nach den Entsorgungsvorschriften in der Regel nicht als infektiös.

Testkarte

Testkarten sind in unterschiedlicher Qualität im Handel. Es sollen nur die vom Screening-Labor bereitgestellten Karten benutzt werden. Die Testkarte ist vollständig auszufüllen mit dem Namen und dem Geburtsdatum des Neugeborenen, Tag der Probennahme und Angaben zum Einsender. Die Testkarte ist aus bestimmten Baumwollfasern hergestellt. Ihre Dicke und Saugfähigkeit sind standardisiert. Die Karten tragen das CE Kennzeichen. Dieses ist ein anerkanntes Symbol für die Konformität mit den entsprechenden Richtlinien. Die Eigenschaften der Testkarte bewirken, dass, korrektes Auftragen des Blutes vorausgesetzt, in jedem markierten Kreis eine definierte



Abb.: Für die Punktion geeignete Bereiche am Fuß des Neugeborenen sind markiert.

Menge Blut für die Untersuchung enthalten ist. Nur so lassen sich die Inhaltsstoffe des Blutes im Screening mit ausreichender Genauigkeit bestimmen.

Wir bitten darum, auf der Testkarte alle markierten Kreise mit jeweils einem dicken Tropfen Blut auszufüllen. Die Kreise sollen jeweils mit einem einzigen Tropfen, der auf die Vorderseite der Testkarte aufgegeben wird, so viel Blut erhalten, dass Vorder- und Rückseite vollständig getränkt sind. Blut nicht mehrfach auf dieselbe Stelle auftragen. Dies führt zu falschen Testergebnissen. Wenn Blut schwer zu gewinnen ist, lieber weniger Felder ausfüllen (jedoch mindestens 5!), die aber mit jeweils einem dicken Tropfen. Wenn zu wenig Kreise gut mit Blut getränkt wurden, hat das Labor nicht die Möglichkeit, die Tests bei positiven oder zweifelhaften Ergebnissen sofort zu wiederholen.

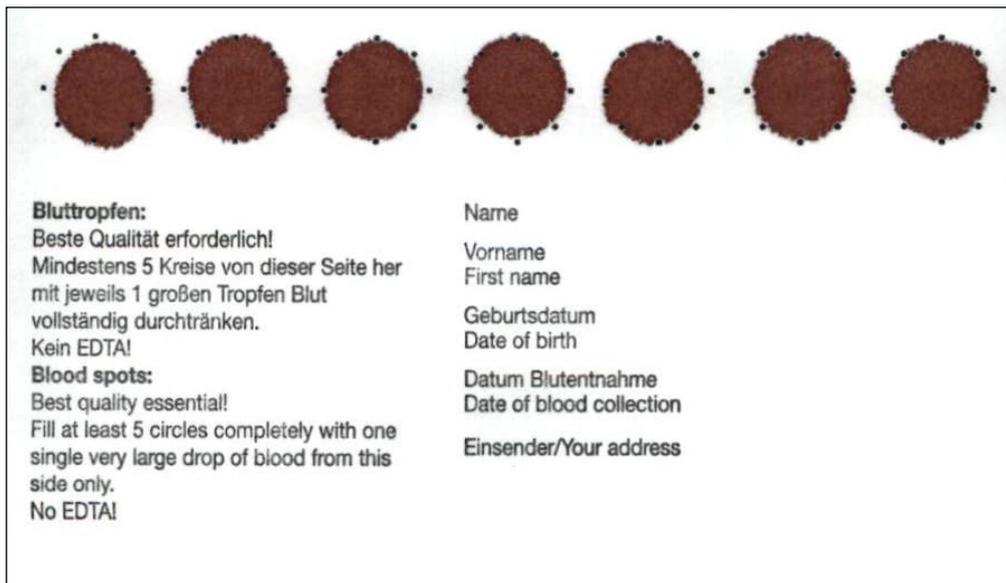


Abb.: Korrekt mit Blut betropfte Testkarte

Vom korrekten Auftragen der Blutropfen hängt die Zuverlässigkeit der Laboregebnisse ab. Am besten berührt man die Blutropfen an der Ferse vorsichtig mit der Testkarte. Kapillaren mit EDTA, Citrat und Heparin sind ungeeignet. Diese Zusätze stören die Analytik.

Venöses Blut kann aufgetropft werden, allerdings kein Citrat-, Heparin- oder EDTA-Blut. Bitte beachten Sie, dass das Blut mit den gerinnungshemmenden Stoffen vollständig durchmischt wurde. Sehr wichtig ist auch, dass ungerinnbar gemachtes Blut nicht längere Zeit steht, damit es vor dem Auftropfen nicht zu einer Trennung von zellulären und flüssigen Bestandteilen kommt, denn für das Screening wird Vollblut benötigt. Ungerinnbar gemachtes Blut nicht auf die Testkarte gießen, sondern auftropfen. Das Auftragen zu großer Blutmengen bewirkt eine ungleichmäßige Verteilung der Inhaltsstoffe (Chromatographie-Effekt). Nicht geeignet sind Proben, die aus Serumröhrchen nach Eintritt der Gerinnung gewonnen wurden. Blut sollte nicht aus liegenden intravasalen Zugängen entnommen werden, die Gefahr einer Vermischung mit Injektions- oder Infusionsflüssigkeit ist zu groß. Nach dem Auftragen des Blutes müssen die Testkarten bei Zimmertemperatur mindestens ca. 2-3 Stunden gut trocknen, am besten senkrecht an einen Gegenstand gelehnt, bevor sie verschickt werden. Die mit Blut durchtränkten Areale dürfen während des Trocknungsprozesses nicht in Kontakt mit Gegenständen kommen. Jede zusätzliche Wärme- einwirkung muss vermieden werden.

Frisch mit Blut betroffene Karten:

- nicht auf die Heizung
- nicht direkt unter eine Schreibtischlampe
- nicht direkt in die Sonne legen
- nicht mit Warmluft behandeln

Karten dürfen auch im Auto nicht der Sonne und Wärme ausgesetzt werden. Der Transport in einem sehr warmen Auto ist eine wesentliche Ursache für kontrollbedürftige Ergebnisse (falsch niedrige Enzymaktivitäten) bei ambulanter Blutentnahme. Die Karten müssen vor dem Transport trocken sein (s. oben).

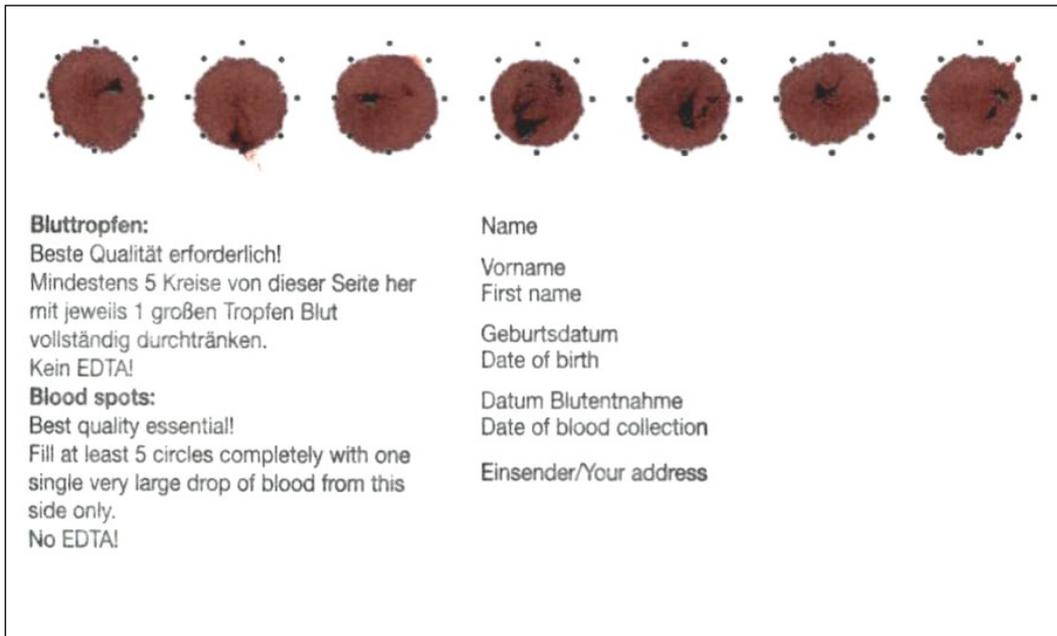


Abb.: Testkarte mit vor dem Auftragen geronnener Blutprobe. Folge: unzuverlässige Ergebnisse. Für das Screening nicht geeignet.

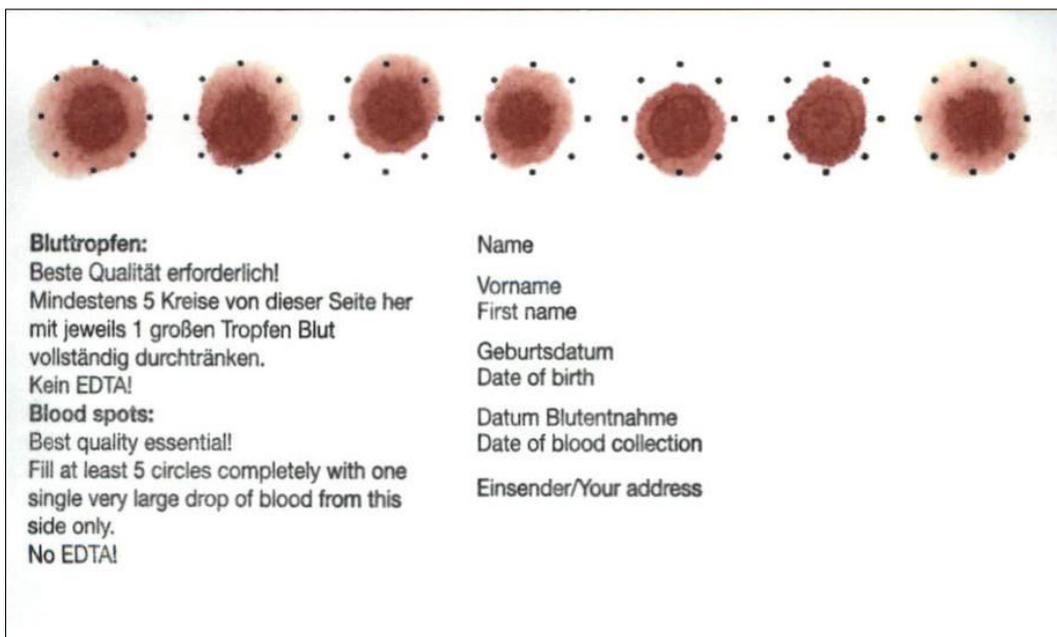


Abb.: Testkarte mit Trennung von Erythrozyten und Plasma. Folge: inhomogene Verteilung. Für das Screening nicht geeignet.

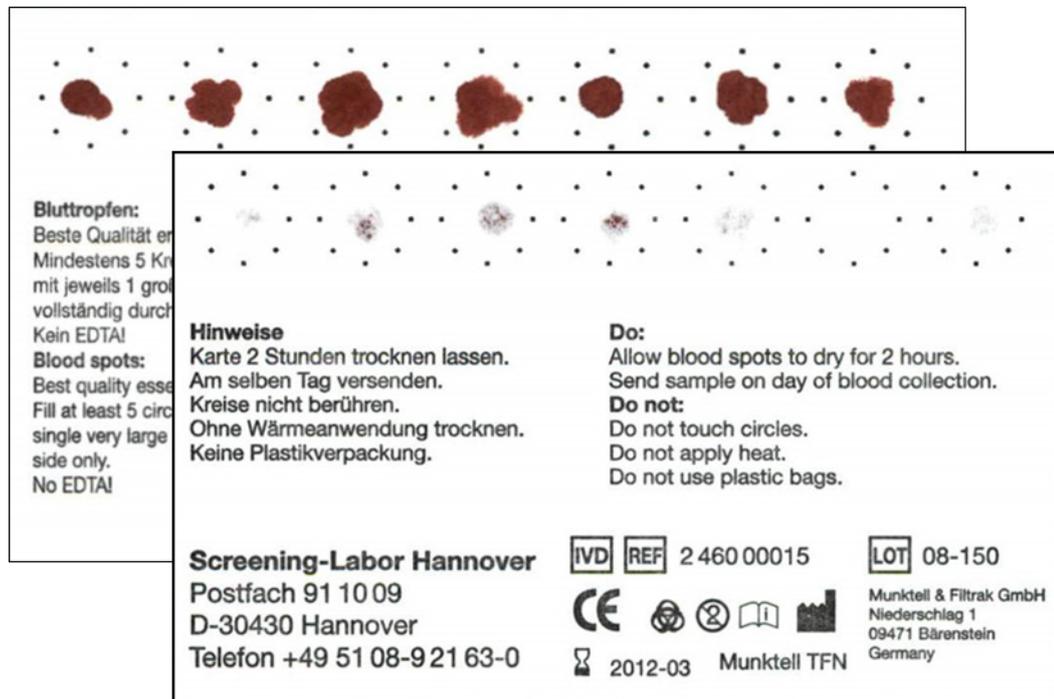


Abb.: Vorder- und Rückseite einer Testkarte, die nicht vollständig durchtränkt wurde. Folge: Quantifizierung sämtlicher Stoffwechselfparameter und Hormone nicht möglich.

Vorgedrucktes Einsendeformular

Um die Analysen dem Auftrag entsprechend durchführen zu können, sowie für die Befundübermittlung und für die Abrechnung benötigt das Labor einige Angaben. Bitte verwenden Sie hierfür die zur Verfügung gestellten Vordrucke. Im Adressfeld haben wir über der Anschrift die jeweilige Einsender-Nummer angegeben. Sie dient der korrekten Erfassung des Einsenders jeder einzelnen Blutprobe. Mit der standardisierten Nummer lässt sich am besten sicherstellen, dass die in unserer Datenbank hinterlegten speziellen Profile immer berücksichtigt werden und dass der Befund den Einsender ohne Verzögerung erreicht. Bitte dementsprechend Einsendescheine, die für Sie voradressiert sind, nicht an andere Einsender weitergeben. Dies gilt auch innerhalb eines Krankenhauses, wenn verschiedene Stationen als getrennte Einsender erfasst sind. Sollten Krankenhäuser oder Ärzte Hebammen mit der Blutentnahme beauftragen, soll ein Einsendeschein des Auftraggebers verwendet werden. Nur dieser, nicht die Hebamme, erhält entsprechend den Bestimmungen des GenDG den ausführlichen Befund. Die ausführende Hebamme erhält einen Kurzbericht. Bei ambulanter Entnahme erfolgt die Abrechnung des Screenings über die KV, bzw. bei Privatpatienten und Selbstzahlern über Rechnung.

Benötigte Angaben

Vom Kind: Name, Geschlecht, Geburtsdatum und -uhrzeit, Tag der Blutentnahme und Uhrzeit, Geburtsgewicht, Gestationsalter, Angaben der für das Neugeborenen-Screening relevanten Therapiemaßnahmen, Versicherten-Status.

Bei Privatversicherten und Selbstzahlern: die Privat-(Rechnungs-)Anschrift.

Von der Mutter: Name, (falls vom Namen des Kindes abweichend), Geburtsdatum (wird für das Auffinden von Krankenunterlagen und in schwierigen Fällen zum Aufsuchen der Daten eines Kindes benötigt), Telefonnummer(n) und Adresse für eilige Befundmitteilung (vergl. §22 Kinderrichtlinie).

Die krankenhausesüblichen Aufkleber mit den Patienten-Daten sind geeignet, sofern fehlende Angaben ergänzt werden.

Untersuchungsauftrag

- Bei Erstuntersuchungen wird in der Regel das gesamte Testspektrum angefordert. Sondervereinbarungen sind bei den Einsenderdaten hinterlegt. Sie können den Untersuchungsauftrag im Einzelfall begrenzen, was u. a. bei Frühgeborenen und bei Testwiederholungen Bedeutung haben kann.
- Bei angeforderten Kontrolluntersuchungen soll nur der zu kontrollierende Parameter in Auftrag gegeben werden. Bei ambulanter Veranlassung der Kontrolluntersuchung und Blutentnahme ist ein Laborüberweisungsschein Muster 10 zusätzlich erforderlich.
- Wir bitten, den Untersuchungsauftrag in dem dafür vorgesehenen Feld zu unterschreiben. Mit der Unterschrift des Auftraggebers wird nicht nur der Auftrag rechtskräftig. Es wird vielmehr zugleich bestätigt, dass das Einverständnis nach Aufklärung der Sorgeberechtigten zur Untersuchung vorliegt. Weiterhin bestätigt der Einsender hiermit, dass die Sorgeberechtigten mit einer Weitergabe von Befundkopien an weiter- oder mitbehandelnde Ärzte oder Hebammen und an das Screening-Labor (für das Tracking) einverstanden sind. Die Unterschrift einer freiberuflichen Hebamme an dieser Stelle bestätigt, dass die entsprechenden Bestimmungen des GenDG eingehalten wurden.
- Der Einsendeschein bietet weiterhin ein Feld zur Unterschrift durch die Mutter bzw. eine andere sorgeberechtigte Person. Dies dient der Dokumentation der Einwilligung gegenüber dem Screening-Labor. Diese Unterschrift ist nicht unbedingt erforderlich, bei Privatversicherten, Selbstzahlern und im Fall von gewünschten zusätzlichen Untersuchungen bitten wir allerdings auch im Hinblick auf die Abrechnung um eine Unterschrift.

Überweisungsschein

- Ein Labor-Überweisungsschein für (Muster 10) wird bei ambulanter oder belegärztlicher Blutentnahme benötigt. Auch in diesen Fällen füllen Sie bitte unseren Vordruck aus.
- Bitte auf dem Überweisungsschein ganz korrekt angeben:
 - für die Abrechnung zuständige Krankenkasse (genaue Bezeichnung und Ort)
 - Krankenkassen-Nummer
 - bei Sozialhilfeempfängern und Asylbewerbern benötigen wir eine Kostenübernahmebestätigung des Kostenträgers, sofern keine Versicherten-Karte der Mutter oder des Kindes vorliegt
 - vollständige Adresse des Kindes und sein Geburtsdatum
 - Versicherten-Nummer des Kindes (wenn schon vorhanden)
 - Bitte unbedingt angeben, ob das Neugeborene über die Mutter oder über den Vater mitversichert ist
 - Versichertenstatus, z. B. 1=Mitglied, 3=Familienmitglied

Der Auftrag auf dem Überweisungsschein soll für die Vorsorgeuntersuchung lauten: **„Erweitertes Neugeborenen-Screening“, EBM 01724**. Anzukreuzen ist das Feld **„präventiv“**. Dies gilt auch in Fällen von sog. Zweitscreenings, z.B. bei Frühgeborenen oder für die Zweituntersuchung nach Entlassung vor der 36. Lebensstunde. Als Zweitscreening gilt auch die Wiederholung der gesamten Untersuchung, wenn diese wegen schlechter Blutropfenqualität erforderlich sein sollte.

Bei Kontrolluntersuchungen sind auf dem Überweisungsschein die jeweils notwendigen Untersuchungen spezifiziert aufzuführen. Die Anforderung von Kontrollen kommt abrechnungstechnisch der Abklärung eines Krankheitsverdachts gleich. Anzukreuzen ist das Feld „**kurativ**“. Kontrolluntersuchungen sind bei ambulanten Patienten von Ärzten zu veranlassen, sie belasten das kassenärztliche Laborbudget.

Regelmäßige Verlaufskontrollen, z. B. in der Betreuung eines PKU-Kindes, sind kurative Leistungen. Sie belasten das Laborbudget der Praxis nicht, wenn zusätzlich die **EBM-Ausnahmekennziffer 32017** (manifeste angeborene Stoffwechsel- und/oder endokrinologische Erkrankung(en) bei Kindern und Jugendlichen bis zum vollendeten 18. Lebensjahr) angegeben wird.

Regelung für Hebammen

Hebammen können nach den Bestimmungen des GenDG das Neugeborenen-Screening nur in Ausnahmefällen selbständig veranlassen, wenn sie die Geburt eigenständig durchgeführt haben (Hausgeburt) und wenn ein Arzt im Hintergrund für Fragen zur Verfügung steht; dies kann nach Absprache auch der Arzt des Screening-Labors sein, in das die Probe geschickt wird. Bei durch Hebammen veranlassten Screening-Untersuchungen wird kein Überweisungsschein benötigt. Besonders wichtig für die Abrechnung ist dann die Angabe der zuständigen Krankenkasse mit richtiger Ortsangabe und Kassenummer bzw. das zuständige Sozialamt und das Aktenzeichen des Neugeborenen.

Die Kinder-Richtlinie unterscheidet zwischen dem „Neugeborenen-Screening“ und dem Screening auf Mukoviszidose. Letzteres darf die Hebamme nicht anfordern und durchführen lassen, sondern muss die Eltern über die Möglichkeit des Screenings informieren. Dieses darf jedoch erst nach Aufklärung der Eltern durch einen Arzt von diesem an- oder nachgefordert werden (siehe auch Screening auf Mukoviszidose, siehe Seite 48).

Bei allen ärztlich veranlassten ambulanten Screening-Untersuchungen wird der Überweisungsschein des Arztes benötigt. Erforderlich ist zusätzlich das genaue Ausfüllen unseres Auftragscheines.

Bitte bei der Kontrolleinsendung (positive Vorprobe) beachten: Einsendung der Probe nur mit Überweisungsschein von niedergelassenen oder ermächtigten Ärzten. Nach geltendem Recht handelt es sich bei der Kontrolluntersuchung um eine kurative Leistung, die nicht von einer Hebamme veranlasst werden darf.

Weitergehende Laboruntersuchungen sind in der Regel über den betreuenden Haus- oder Kinderarzt zu veranlassen. Sie gehören nicht zu den Aufgaben einer Hebamme. Dies gilt auch für zusätzliche Untersuchungen aus der vorliegenden Testkarte.

Versand der Testkarten an das Labor

§ 21 Kinder-Richtlinie

(5) Das Entnahmedatum soll zugleich Probenversanddatum sein.

Die (ohne Wärmeanwendung) gut durchgetrockneten Testkarten zusammen mit dem Begleitschein und ggf. Überweisungsschein im voradressierten Umschlag an das Labor einschicken. Beim Transport ist die Testkarte besonders gut geschützt, wenn sie im Briefumschlag in die Faltung des Begleitscheins gelegt ist. Keine zusätzlichen Verpackungen, insbesondere keine Plastikbeutel verwenden. Diese bilden eine feuchte Kammer, was bei Wärmeeinwirkung zur Zerstörung bestimmter Stoffe führen kann.

Versenden:

- in der Regel am Tag der Probengewinnung (s. oben Seite 9)
- ausreichend frankiert (bitte nicht mit privaten Postdienstleistern versenden, dies führt erfahrungsgemäß zu deutlichen Verzögerungen in der Zustellung)
- nicht als Eilbrief
- nicht als Einschreiben
- bei Versand über die Deutsche Post nur an unsere Postfachadresse, da bedeutend schneller als Hausadresse
- Kurierdienste benutzen die Hausadresse (Am Steinweg 11 A, 30952 Ronnenberg, OT Benthe). Die Proben müssen das Labor vor 9 Uhr erreichen, um noch am selben Tag vollständig analysiert werden zu können.

Sehr wichtig: Wenn der Brief das regionale Briefzentrum der Deutschen Post Ihres Bereiches vor Annahmeschluss (meist 19.30 Uhr) erreicht, liegt er gewöhnlich am nächsten Morgen in unserem Postfach und kann sofort bearbeitet werden. Bitte erkundigen Sie sich bei Ihrer Poststelle, wann der nächste Transport an das Briefzentrum geht. Die Feststellung der Leerungszeit eines Briefkastens oder der Geschäftszeiten einer Poststelle genügen nicht. Der reguläre Versand an unser Postfach ist bei rechtzeitiger Absendung erfahrungsgemäß zuverlässiger und schneller als Eilpost und Einschreiben und schneller als die meisten Kurierdienste und privaten Postdienstleister. Dies gilt auch für Freitage! Bei rechtzeitigem Absenden können die Proben am Samstag untersucht werden, wichtige Ergebnisse erhalten Sie noch am selben Tag!

Dokumentation des Neugeborenen-Screenings und Verantwortlichkeit

Nach GenDG trägt die ärztliche Person, welche die Eltern verantwortlich aufgeklärt hat und die Untersuchung der Blutprobe im Screening-Labor veranlasst, die Gesamtverantwortung für alle Teilschritte des Screenings. Dies ist häufig der die Geburt leitende Arzt. Die Verantwortung dafür, dass das Screening überhaupt durchgeführt wird, verbleibt entsprechend der Kinder-Richtlinie bei dem für die Geburt verantwortlichen Leistungserbringer. Dies ist bei einer Hausgeburt ggf. eine Hebamme. Diese muss im Hinblick auf die Bestimmungen des GenDG einen Arzt einbeziehen.

§ 19 Kinder-Richtlinie

(1) Der Leistungserbringer, der die Geburt des Kindes verantwortlich geleitet hat, ist für die Durchführung des Screenings verantwortlich. Der Leistungserbringer (im Folgenden „Einsender“ genannt) hat das Labor mit der Analyse der zugesandten Probe zu beauftragen. Wurde die Geburt durch eine Hebamme oder einen Geburtspfleger verantwortlich geleitet, so soll sie/er in gegenseitigem Einvernehmen einen verantwortlichen Arzt benennen. Ist eine Benennung ausnahmsweise nicht möglich, hat die Hebamme/der Entbindungspfleger das Screening in eigener Verantwortung durchzuführen, wenn die Rückfragemöglichkeit an einen Arzt gewährleistet ist. Durch die Probenübermittlung an einen nach § 23 berechtigten Laborarzt wird diesem die Verantwortung für die Laboruntersuchungen nach § 17 und die Befundübermittlungen nach § 22 übertragen.

(2) Auch ohne Durchführungsverantwortung nach Absatz 1 hat sich der die U2-Früherkennungsuntersuchung beim Neugeborenen durchführende Arzt bei der Untersuchung zu vergewissern, dass die Entnahme der Blutprobe für das erweiterte Neugeborenen-Screening dokumentiert wurde. Ist das Screening nicht dokumentiert, so hat er das Screening nach dieser Richtlinie durchzuführen.

Angeborene Stoffwechselstörungen, Endokrinopathien oder Immundefekte können, wenn nicht adäquat behandelt, zu lebenslanger gesundheitlicher Beeinträchtigung führen. Wenn die Richtlinie auch dem „Einsender“ die entscheidende Verantwortung dafür überträgt, dass bei jedem Kind alle notwendigen Tests durchgeführt und aus positiven Ergebnissen die entsprechenden diagnostischen und therapeutischen Konsequenzen gezogen werden, so bedeutet dies nicht, dass nicht doch alle am Screening Beteiligten ihrerseits Verantwortung übernehmen.

Erste Pflicht ist es, über jede Blutentnahme exakt Buch zu führen und jedes Ergebnis ebenso wie die Aufklärung und die Einwilligung der Sorgeberechtigten schriftlich zu dokumentieren. Wichtig ist die regelmäßige Überprüfung und Dokumentation des Eingangs der Untersuchungsergebnisse beim Einsender. So lässt sich zeigen, dass kein Kind vergessen wurde und keine Probe verloren ging. Sollte eine Woche nach der Blutentnahme das Ergebnis des Screening-Labors noch fehlen, ist eine Rückfrage im Labor unbedingt erforderlich (am besten per Fax 05108-92163-19).

Die Durchführung des erweiterten Neugeborenen-Screenings ist im Kinderuntersuchungsheft des Gemeinsamen Bundesausschusses (sog. Gelbes Vorsorgeheft) nach § 35 Satz (4) und § 69 der Kinder-Richtlinie in geeigneter Weise zu dokumentieren. Das Screening-Labor stellt hierfür geeignete Aufkleber zur Verfügung.

Der die U2-Früherkennungsuntersuchung beim Neugeborenen durchführende Arzt hat sich bei der Untersuchung zu vergewissern, dass das erweiterte Neugeborenen-Screening dokumentiert wurde. Ist das Screening nicht dokumentiert, so hat er das Screening nach der Kinder-Richtlinie durchzuführen. Es besteht aber auch die Möglichkeit, sich im Screening-Labor nach der Durchführung des Screenings zu erkundigen und eine Befundkopie anzufordern, sofern die Eltern einverstanden sind und es sich um den (weiter-) behandelnden Arzt des Kindes handelt. Dies geschieht im Hinblick auf die DSGVO am besten über eine Faxabfrage.

Befundübermittlung an die Einsender/Anforderung von Kontrollen

§ 22 Kinder-Richtlinie

(1) Wenn die Untersuchung aus der Blutprobe des Kindes im Labor den Verdacht auf das Vorliegen einer der Zielkrankheiten ergibt, ist der verantwortliche Einsender unverzüglich zu unterrichten und zur Entnahme einer Kontrollblutprobe aufzufordern. Dabei ist auf die Notwendigkeit einer schnellen, fachkompetenten Abklärung und Weiterbetreuung ausdrücklich und mit Bezug auf die befundete Zielkrankheit hinzuweisen. Dem Einsender ist zu empfehlen, schnellstmöglich Kontakt zu den Eltern (Personensorgeberechtigten) aufzunehmen. Außerdem sind ihm Kontaktmöglichkeiten (insbesondere Telefonnummern) zu den nächsterreichbaren Zentren mit Stoffwechselspezialisten oder Endokrinologen mit 24-stündiger Erreichbarkeit mitzuteilen.

(2) Datum und Uhrzeit der Befundübermittlung, der Informationsempfänger und das vereinbarte Vorgehen sind zu dokumentieren.

(3) Für ihre Erreichbarkeit zum Zeitpunkt der möglichen Befundübermittlung sind die Telefonnummern und Adressen des Einsenders und Eltern (Personensorgeberechtigte) auf einem abtrennbaren Teil der Filterpapierkarte (Einsendeschein) anzugeben. Die schriftliche Einwilligung der Personenberechtigten gemäß § 16 umfasst grundsätzlich die Übermittlung der personenbezogenen Daten, insbesondere der Telefonnummer und Adresse, zum Zwecke der

unmittelbaren Kontaktaufnahme im Sinne von Absatz 4. Nach abgeschlossener Diagnostik, Befundübermittlung und Abrechnung sind die Kontaktdaten unverzüglich zu löschen und die weiteren personenbezogenen Daten zu pseudonymisieren.

(4) Bei pathologischen Befunden erfolgt eine unverzügliche Befundweitergabe, mündlich und schriftlich, vom Laborarzt an den Einsender. Im Falle der Nichterreichbarkeit des Einsenders ist der Laborarzt berechtigt, den Befund unmittelbar den Personensorgeberechtigten mitzuteilen, wenn dies zur Abwendung unmittelbarer Gefahren für die Gesundheit des Kindes erforderlich ist und wenn deren schriftliche Einwilligung vorliegt. Der Laborarzt hat den Befund entsprechend §22, Absatz 5 mitzuteilen.

(5) Der Einsender informiert unverzüglich die Eltern (Personensorgeberechtigte). Dabei ist auf die Notwendigkeit einer schnellen, fachkompetenten Abklärung und Weiterbetreuung ausdrücklich hinzuweisen. Datum und Uhrzeit der Befundübermittlung, der Informationsempfänger und das vereinbarte Vorgehen sind zu dokumentieren. Außerdem sind den Personensorgeberechtigten Kontaktmöglichkeiten (insbesondere Telefonnummern) zu den nächsterreichbaren Zentren mit Stoffwechselspezialisten oder Endokrinologen mit 24-stündiger Erreichbarkeit mitzuteilen.

(6) Unauffällige Befunde werden dem Einsender schriftlich mitgeteilt. Die Eltern (Personensorgeberechtigten) werden ohne Vorliegen eines pathologischen Befundes nur auf ihre ausdrückliche Nachfrage vom Einsender informiert.

Die Forderungen der Kinder-Richtlinie werden im Screening-Labor Hannover folgendermaßen umgesetzt: Die Laboruntersuchungen sind in der Mehrzahl der Fälle am Abend des Probeneingangs abgeschlossen. Die Befunde werden täglich versandt. Dies geschieht per Fax, Brief oder elektronisch (LDT), was die Übermittlung der Ergebnisse stark beschleunigt. Negative Ergebnisse werden auf Wunsch als Einzelbefunde oder als Listenbefunde zugestellt. Positive Befunde werden stets einzeln gedruckt und gefaxt sowie zusätzlich per Post verschickt.

Besteht der dringliche Verdacht auf das Vorliegen einer Erkrankung, so muss schnell gehandelt werden. Der diensthabende Arzt informiert den Einsender sowohl telefonisch als auch schriftlich bzw. per Fax.

Einige der Erkrankungen, die im Neugeborenen-Screening gefunden werden, sind sehr selten. Niedergelassene Kinder- und Jugendärzte, aber auch Pädiater und Gynäkologen in regionalen Krankenhäusern werden nur ausnahmsweise über eigene Erfahrungen in der Betreuung solcher Patienten verfügen. Die Ärzte des Labors liefern daher außer der Befundmitteilung auch Informationen über die weiteren notwendigen Schritte, z. B. erforderliche Kontrolluntersuchungen, Besprechung der Notwendigkeit einer Klinikeinweisung oder Vorstellung beim (Kinder-)Arzt sowie auf Wunsch die Empfehlung von Stoffwechsellzentren.

Für detaillierte Informationen zur weiteren Diagnostik bei den durch die Tandem-Massenspektrometrie entdeckten Erkrankungen (Störungen im Carnitinstoffwechsel, in der β -Oxidation, einigen Aminoazido- sowie Organoazidopathien) sei auf die Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) sowie entsprechende Fachliteratur verwiesen. Entscheidend ist die umgehende Einbeziehung erfahrener Stoffwechselexperten, pädiatrischer Endokrinologen, pädiatrischer Immunologen und Neuropädiater.

Ein Teil der betroffenen Kinder kann (noch) symptomfrei sein, wenn der Screening-Befund eintrifft, trotzdem darf keine Zeit verloren werden, denn die Gefahr einer Stoffwechsellentgleisung ist in den ersten Lebenstagen besonders groß.

Leicht von den Normbereichen abweichende Untersuchungsergebnisse rechtfertigen nicht den Verdacht auf eine akute Gefährdung des Kindes. In solchen Fällen erhält der Einsender nur einen schriftlichen Bericht. Die empfohlene Kontrolle (oder ein Zweitscreening) muss ohne Verzögerung veranlasst werden und sollte – laut Richtlinie – im ursprünglichen Screening-Labor erfolgen.

Proben, die wegen schlechter oder ungenügender Blutstropfenqualität beanstandet wurden, verlangen eine umgehende Wiederholung der Untersuchung (Zweitscreening), da die gewonnenen Ergebnisse nicht verlässlich sind. Sie müssen wie ein fehlendes Screening gewertet werden! Dennoch wird das Screening-Labor versuchen, alle Untersuchungen durchzuführen, um auch aus dem unzureichenden Probenmaterial eine mglw. lebensgefährliche Erkrankung zu detektieren.

Immer wiederholungspflichtig ist das Screening wenn Proben, die vor Vollendung der 36. Lebensstunde abgenommen waren, untersucht wurden (Zweitscreening). Die Wiederholung soll möglichst im empfohlenen Zeitfenster zwischen der 48. und der 72. Lebensstunde erfolgen. Auch Proben von Kindern, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme Katecholamine und/oder Kortikosteroide erhielten, und Frühgeborene, die bei der Screening-Untersuchung unreifer als 32 Schwangerschaftswochen alt waren, brauchen – unabhängig vom Ergebnis der ersten Probe – ein Zweitscreening nach Absetzen der Therapie bzw. nach Erreichen eines errechneten Gestationsalters von 32 Schwangerschaftswochen (SSW). Erfolgte vor der Blutentnahme eine Transfusion, muss das Screening ebenfalls wiederholt werden. Metaboliten und Hormone können ca. eine Woche nach der letzten Transfusion verlässlich gemessen werden, Enzymaktivitäten (Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase) frühestens nach 6 Wochen.

Abrechnung

§ 14 Kinder-Richtlinie; Geltungsbereich

Die Richtlinie gilt auf Grundlage von § 26 des Fünften Buches Sozialgesetzbuch (SGB V) für alle zu Lasten der gesetzlichen Krankenversicherung durchgeführten Neugeborenen-Screenings, unabhängig davon, welcher Leistungserbringer sie einleitet oder erbringt.

§ 15 Kinder-Richtlinie; Anspruchsberechtigung

Neugeborene haben Anspruch auf Teilnahme am erweiterten Neugeborenen-Screening entsprechend der Kinder-Richtlinie.

Für ambulant versorgte Neugeborene wird über den Laborüberweisungsschein (Muster 10) abgerechnet.

Obligater Leistungsinhalt GOP 01724:

- Screening-Untersuchungen der Zielkrankheiten mittels Laboruntersuchungsverfahren bzw. mittels der Tandem-Massenspektrometrie
- Befundübermittlung an den verantwortlichen Einsender

Der verantwortliche Einsender kann nach der Leistungsposition 01707 EBM abrechnen. Die GOP 01707 ist nur einmal pro Kind innerhalb von 10 Tagen p.p. abrechenbar. Obligater Leistungsinhalt:

- Eingehende Aufklärung der Eltern bzw. den (der, des) Personenberechtigten des Neugeborenen zu Sinn, Zweck und Ziel des erweiterten Neugeborenen-Screenings
- Aushändigung des Informationsblattes entsprechend Anlage 3 der Kinder-Richtlinie

Fakultativer Leistungsinhalt:

- Probenentnahme von nativem Venen- oder Fersenblut als erste Blutprobe oder Kontrollprobe mit Probenaufbereitung im Rahmen des erweiterten Neugeborenen-Screenings
- Versendung an das Screening-Labor
- Neben der Leistung nach der GOP 01707 werden meist Kostenpauschalen des Kapitels 40 für die Versendung von Untersuchungsmaterial berechnet.

Für stationäre Patienten vereinbaren Krankenhäuser in der Regel einen Pauschalpreis für alle Screening-Leistungen pro Fall. Der Pauschalpreis gilt für das Standard-Untersuchungsprogramm. Sonderuntersuchungen und die Abklärung von Verdachtsfällen gehören nicht dazu. Für die Anwendung des Pauschalpreises ist die korrekte Kostenträgerangabe erforderlich. Wiederholte nachträgliche Änderungen verursachen hohe Kosten. In solchen Fällen wird nach Einzelpositionen abgerechnet.

Klinik-Patienten mit Wahlleistung („Chefarztbehandlung“), ambulante Privatpatienten und Selbstzahler erhalten eine Rechnung für die Einzelpositionen nach der Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ). Die Kosten werden zumeist von den Versicherungen und/oder der Beihilfestelle entspr. den versicherten Tarifen zumindest teilweise erstattet.

Datenschutz**§ 27 Kinder-Richtlinie**

(2) Das Labor muss die Einhaltung der jeweils gültigen Datenschutzbestimmungen gewährleisten.

Mit der Akkreditierung ist auch die Einhaltung der Datenschutzbestimmungen gesichert. Im Screening-Labor Hannover werden die allgemeinen arztrechtlichen Grundsätze und die Vorschriften der Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO) eingehalten. Die Mitarbeiter des Screening-Labors Hannover werden bei Einstellung zur Einhaltung der datenschutzrechtlichen Bestimmungen schriftlich verpflichtet. Nach Artikel 37 DSGVO und § 38 BDSG ist ein Datenschutzbeauftragter bestellt worden. Für die Aufbewahrungsfrist patientenbezogener Daten gelten die im Berufsrecht festgelegten Fristen (§ 10 Abs. 3 MBO Ärzte vom 14.12.2018) sowie die Vorgaben des GenDG.

Restblutproben

§13 GenDG fordert die Vernichtung des Probenmaterials, sobald es für den Untersuchungsauftrag nicht mehr benötigt wird.

§27 Kinder-Richtlinie

(3) Restblutproben sind unverzüglich nach Abschluss der Ringversuche zur Qualitätssicherung nach den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, spätestens jedoch nach 3 Monaten zu vernichten.

Die unserem Labor zugesandten Blutproben werden unter Verschluss gelagert, wie dies zur bestimmungsgemäßen Bearbeitung des Untersuchungsauftrages erforderlich ist. Wenn davon ausgegangen werden kann, dass Wiederholungsuntersuchungen aus den Trockenblutkarten nicht mehr notwendig sein werden, werden diese durch Verbrennung vernichtet. Das beauftragte Unternehmen versichert gegenüber dem Labor die Datenschutz-konforme Vernichtung.

Störungen / Fehlerquellen des Neugeborenen-Screenings

Es gibt eine Vielzahl von Faktoren, die das Ergebnis des Neugeborenen-Screening beeinflussen können. Einige wichtige sind hier aufgeführt. Die Einhaltung der prä-analytischen Faktoren ist eine essenzielle Voraussetzung, dass das Neugeborenen-Screening entsprechend der Kinderlinie durchgeführt werden kann und die Anzahl kontrollbedürftiger Proben so gering als möglich ist.

Testparameter	Falsch-positives Ergebnis	Falsch-negatives Ergebnis
TSH	Blutentnahme vor der 36. Lebensstunde Jodhaltige Medikamente Jodkontamination des Kindes Thyreostatika bei der Mutter	Frühgeburt < 32. SSW Katecholamine, EDTA, Transfusion/fresh frozen plasma, „spät-manifeste Hypothyreose "
17-OHP (17-alpha-Hydroxy-Progesteron)	Nabelschnurblut/Blutentnahme vor der 36. Lebensstunde Frühgeburt Stress EDTA	Kortikoid-Therapie (Mutter/Kind) 17-alpha-Hydroxylase-Mangel Austauschtransfusion/fresh frozen plasma milde Varianten des AGS
Biotinidase	Frühgeborene (Enzymunreife), Hitze & Desinfektionsmittel auf Trockenblutprobe	Transfusion/fresh frozen plasma
GALT (Galaktose-1-P-Uridyl-Transferase)	Hitze & Desinfektionsmittel auf Trockenblutprobe, lange Transportzeit	Transfusion von Erythrozyten
Galaktose	Verunreinigung der Testkarte mit Milch	anhaltendes Erbrechen keine Gabe von Mutter-/Säuglingsmilch (Galaktose-freie Kost)
Phenylalanin	Parenterale Ernährung Gabe von Trimethoprim Verunreinigung der Testkarte mit Aspartam Frühgeborene (Ratio Phe/Tyr)	< 36 Lebensstunden
Leucin/ Isoleucin	Aminosäuren-Infusion hohe Proteinzufuhr Hyperhydroxyprolinämie	< 36 Lebensstunden intermediäre und milde Verlaufsvarianten der Ahornsirup-Krankheit
Glutaryl-Carnitin C5DC	Niereninsuffizienz	biochemisch milde Phänotypen <i>Low Excreter</i>
Isovaleryl-Carnitin C5	Pivalinsäure-haltige Medikamente (Antibiotika), Methylbutyrylglycinurie	
mittellangkettige Acylcarnitine	Gabe von Valproat Gabe von MCT-haltiger Nahrung	hoch-kalorische Ernährung/Glukose-Infusion
Langkettige Acylcarnitine	Katabolismus Sonnenblumen-/Olivenöl längere Fastenperioden	Glukose-Infusion BE > 72 Lebensstunden, kompensierte Stoffwechsellage
Mukoviszidose (CF)	BE < 12 Lebensstunden, Verunreinigung der Testkarte mit Stuhl, Frühgeburt bzw. Geburtsgewicht < 1500 g, perinataler Stress, Sepsis, Hypoxie, Hypoglykämie, intensivmedizinische Behandlung, Trisomie 13, 18 und 21, Fehlbildungen und Tumore, CF-Heterozygotenstatus	Mekoniumileus, normale Pankreasfunktion trotz Mukoviszidose, bestimmte CFTR-Mutationen
SCID	Frühgeburtlichkeit < 32. SSW, T-Lymphozytopenien, Infektionen	

Tabelle: modifiziert nach: Steuerwald U (2011): Pädiatrie hautnah 23(3) 244-50 (mit freundlicher Genehmigung des Springer Medizin-Verlages) und der AWMF Leitlinie 024/012 Klasse S2K "Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien"

Transfusion/fresh frozen Plasma (FFP)

Das Neugeborenen-Screening sollte möglichst vor Gabe einer Transfusion/fresh frozen Plasma (FFP) abgenommen werden, auch wenn das Kind <36 Stunden alt ist. Transfusionen beeinflussen

das Ergebnis der Tests nachhaltig und können zu falsch negativen Resultaten (siehe Tabelle unten) führen. Zudem kann es zu Verdünnungseffekten kommen, die zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnisse führen können.

Sollte es doch einmal notwendig sein, das Neugeborenen-Screening nach Gabe von Blut- oder Blutersatzprodukten abzunehmen, sollte die Untersuchung nach einer Woche (Serum-Parameter) und 6-8 Wochen (erythrozytäre Parameter) wiederholt werden.^{1 2}

¹ Dtsch Arztebl 2011; 108(1–2): 11–22. DOI: 10.3238/arztebl.2011.0011

² AWMF Leitlinie 024/012 Klasse S2K "Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien"

Allgemeines zu den Labormethoden

Die Laboruntersuchungen zum Neugeborenen-Screening unterscheiden sich grundsätzlich von anderen ärztlichen Labor-Untersuchungen. Sie dienen dem Zweck, Probanden in zwei Gruppen einzuteilen, nämlich eine kleine „mit Verdacht“ und eine zweite große „ohne Verdacht“ auf Vorliegen einer angeborenen Stoffwechselstörung, Endokrinopathie oder Immunopathie. Die Analysen des Neugeborenen-Screenings liefern semiquantitative Ergebnisse, Zahlenwerte dienen der Festlegung von Grenzwerten, die die o. g. Einteilung ermöglicht. **Ergebnisse des Neugeborenen-Screenings sind keine endgültigen Diagnosen!**

Das Neugeborenen-Screening wird aus auf Filterpapier getrocknetem Blut bearbeitet. Das Papiermaterial zeigt wechselnde Absorptionseigenschaften für Proteine und Metaboliten und beeinflusst damit die Wiederfindung von mit dem Blut aufgetragenen Substanzen. Der Herstellungsprozess und die momentane Luftfeuchtigkeit tragen weiterhin zu Unterschieden in der pro Flächeneinheit absorbierten und nachweisbaren Menge Blut oder Testsubstanz bei. Für Enzymaktivitäten sind quantitative Bestimmungen nach Substratumsatz/Proteinmenge nicht durchführbar, Acylcarnitine und Aminosäuren in Trockenblut auf Filterpapier lassen sich tandem-massenspektrometrisch ohne vorgeschaltete chromatographische Auftrennung nicht absolut quantifizieren. Die Untersuchung von Trockenblut auf Filterpapier unterscheidet sich damit grundsätzlich von der Analyse flüssiger Proben.

Dementsprechend werden international in der externen Qualitätskontrolle qualitative und semiquantitative Ergebnisse bewertet. Eine Ausnahme machen nur die Ringversuche des Referenzinstituts für Bioanalytik, RfB.

Im Hinblick auf das Ziel des Neugeborenen-Screenings hat die novellierte Kinder-Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA), Anlage 2 „Erweitertes Neugeborenen-Screening“, die in den AWMF-Leitlinien enthaltenen Angaben zur zulässigen Unpräzision des TSH- und des 17-Hydroxyprogesteron-Tests nicht übernommen. Geforderte Qualitätskriterien beziehen sich hier auf die eindeutige Zuordnung der Probe, berufsrechtliche Anforderungen, die Bearbeitungsgeschwindigkeit und die Forderung nach einem jährlichen Bericht an die örtliche Kassenärztliche Vereinigung (KV). Eine weitere qualitätssichernde Maßnahme nach Anlage 2 besteht in der Forderung, bei einem ersten auffälligen Befund sofort eine Kontrolluntersuchung vorzunehmen. In der überarbeiteten „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – Rili-BÄK“ sind auch 4 Parameter des Neugeborenen-Screenings aufgenommen worden (17-Hydroxyprogesteron, IRT, PAP und TSH), die von den Laboren erfüllt werden müssen. Der Nachweis ist den jeweiligen KVen zu belegen.

Zur sicheren Abgrenzung „verdächtiger“ von „unverdächtigen“ Ergebnissen sind die Werte für den Cut-off für Metaboliten erheblich niedriger gesetzt als die im pathologischen Fall erwarteten; umgekehrt sind Grenzwerte für Enzymaktivitäten relativ hoch angesetzt. Im internationalen Vergleich sind die in unserem Labor festgelegten Grenzwerte vorsichtig gewählt.

Mit den o. g. Einschränkungen wird die Qualität der Analysenergebnisse im möglichen Umfang durch interne und externe Qualitätskontrollen sowie durch Interlabor-Vergleiche sichergestellt. Orientierende Werte für eine zulässige Unpräzision, bzw. für Abweichungen vom Tagesmittelwert werden laborintern festgelegt.

Das Screening auf Hypothyreose, adrenogenitales Syndrom, Biotinidase-Mangel und Galaktosämie erfolgt entsprechend den Vorgaben der Kinder-Richtlinie mit konventionellen Methoden (§

17 Kinder-Richtlinie). Für die beiden zuerst genannten Krankheiten sind immunometrische Tests vorgesehen, für die beiden anderen Fluorometrie und Photometrie. Dies führt vor allem bei Frühgeborenen vermehrt zu falsch positiven Test-Resultaten auf das adrenogenitale Syndrom. Um dies zu vermeiden, werden altersabhängige Grenzwerte (Cut-offs) benutzt sowie zusätzlich positive Resultate im Screening-Labor Hannover durch Erstellung von Steroidspektren adrenaler Hormone überprüft.

Für die Früherkennung der übrigen Zielkrankheiten ist die Tandem-Massenspektrometrie (TMS) vorgesehen, mit deren Hilfe Acylcarnitine und Aminosäuren quantifiziert werden. Die gleiche Methodik dient auch gezielten oder ergänzenden Untersuchungen auf Steroide und anderen Metabolite. Das Prinzip der TMS ist in nachfolgender Abbildung dargestellt und besteht darin, dass die in der Probe enthaltenen Moleküle zunächst ionisiert und dann im ersten Quadrupol des Massenspektrometers (MS 1) nach dem Masse-zu-Ladungsverhältnis aufgetrennt werden. In der Kollisionskammer werden die Zielmoleküle fragmentiert und im MS 2 wiederum nach dem Masse-Ladungsverhältnis getrennt und anschließend detektiert. Die Kombination der Informationen aus MS 1 und MS 2 liefert die Messergebnisse.

Tandem-Massenspektrometer

Schematischer Aufbau:

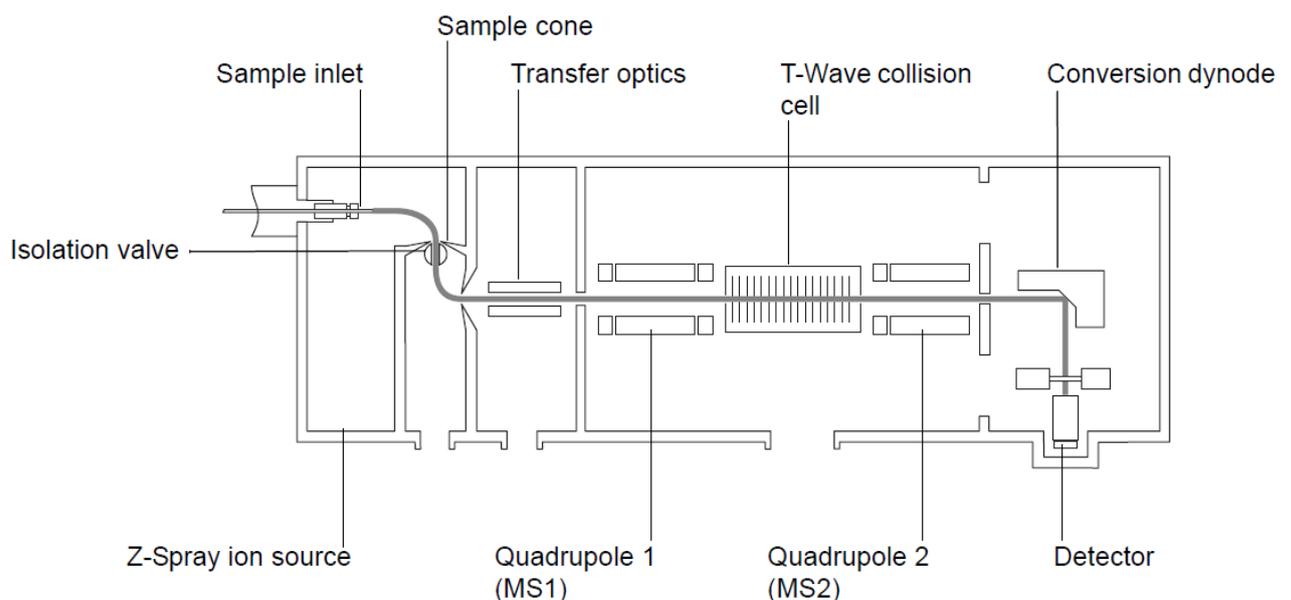


Abb.: Modellzeichnung eines Tandem-Massenspektrometers, aus: Waters TQD IVD Operator's Overview and Maintenance Guide, 715003560IVD / Rev. A (2012), mit freundlicher Genehmigung der Fa. Waters, Eschborn, Deutschland

Die Angaben über die nachgewiesenen Konzentrationen von Acylcarnitinen und Aminosäuren erfolgen in $\mu\text{mol/l}$. Aminosäure-Konzentrationen werden darüber hinaus in Deutschland meist auch in mg/dl angegeben. Für die Umrechnung siehe nachfolgende Tabelle:

Aminosäure	Molmasse [g/mol]	Umrechnungsfaktor mg/dl → μmol/l
Leucin/Isoleucin	131,17	76,2
Methionin	149,21	67,0
Phenylalanin	165,19	60,5
Tyrosin	181,19	55,2
Valin	117,15	85,4

Qualitätssicherung durch die Bestimmung von Hämoglobin der Trockenblutprobe

Die Messung der Konzentration von Hämoglobin in der Probe wird als zusätzlicher Qualitätsparameter zur Absicherung der Analytik verwendet. Sie ergänzt die visuelle Prüfung der Qualität der eingesandten Blutproben. Die Bestimmung dient dazu, eine Information über die eluierte Blutmenge zu liefern. Ihr kommt keine eigene diagnostische Bedeutung zu. Das im Eluat enthaltene Hämoglobin unterschiedlicher Oxidationsstufen wird durch Zusatz des Detergens Natriumlaurylsulfat (SDS) zu einem photometrisch messbaren Komplex umgesetzt und bei 540 nm bestimmt.

Zielkrankheiten des Screenings

Angeborene (konnatale) Hypothyreose

Biochemische Grundlagen

Eine Unterfunktion der Schilddrüse wird als Hypothyreose bezeichnet. Sie kann erworben oder angeboren sein. Die angeborenen Störungen finden sich mit einer Häufigkeit von ungefähr 1:4.000 Neugeborenen. Die angeborene Hypothyreose tritt weltweit mit gleicher Häufigkeit auf. Eine nicht behandelte angeborene Hypothyreose führt schon nach kurzer Zeit zu irreversiblen schweren geistigen und körperlichen Schäden.

Die angeborene Schilddrüsenunterfunktion basiert auf verschiedenen Ursachen. Die für das Neugeborenen-Screening wichtigste Form ist die primäre Hypothyreose, die durch eine Fehlanlage der Schilddrüse (Dysgenese) verursacht wird. Die Schilddrüse kann vollständig fehlen (Aplasie), unvollständig entwickelt sein (Hypoplasie) oder an anatomisch falscher Stelle liegen (Ektopie, z. B. Zungengrund-Schilddrüse). Zur Fehlanlage kommt es während der komplizierten fetalen Entwicklung des Organs. In der Regel besteht kein erhöhtes Wiederholungsrisiko in einer Familie mit einem betroffenen Kind. In seltenen Fällen kann die Ursache einer Schilddrüsen-Dysgenese in der Mutation, z. B. eines regulatorischen Gens, liegen. Hier besteht je nach zugrunde liegendem Erbgang ein Wiederholungsrisiko, ebenso bei den autosomal rezessiv vererbten Schilddrüsenhormon-Synthesestörungen.

Die sekundäre und tertiäre Hypothyreose, deren Ursachen im Bereich von Hypophyse bzw. Hypothalamus liegen, werden im Neugeborenen-Screening nicht erkannt, da sie nicht mit einer erhöhten TSH-Konzentration einhergehen. Diese Formen sind wesentlich seltener als die primäre Hypothyreose. Da die Schilddrüse bei diesen Formen eine basale Sekretion von Schilddrüsenhormon aufrechterhält, sind die Konsequenzen für die Entwicklung des Kindes nicht so ausgeprägt wie bei der primären Hypothyreose. Da oft weitere Hormonstörungen oder andere Symptome bestehen, wird die Schilddrüsen-Unterfunktion im Verlauf der Diagnostik festgestellt.

Transiente Hypothyreose

Es gibt verschiedene Ursachen einer transienten (vorübergehenden) Hypothyreose beim Neugeborenen. Hierzu gehören Belastung durch Jod (z. B. jodhaltige Desinfektionsmittel, jodhaltige Röntgenkontrastmittel), Therapie mit Thyreostatika in der Schwangerschaft und Übergang von mütterlichen Schilddrüsen-Antikörpern über die Plazenta zum Kind. In diesen Fällen beobachtet man ebenfalls einen TSH-Anstieg. Mit dem Wegfall des auslösenden Faktors kommt es zur Normalisierung der Schilddrüsenfunktion beim Neugeborenen. Dennoch kann in manchen Fällen eine vorübergehende Behandlung durch Thyroxin-Substitution erforderlich sein. Die ärztlich kontrollierte Jodergänzungstherapie in der Schwangerschaft oder die Verwendung von jodiertem Speisesalz sind ohne Nachteil.

Regulation der Schilddrüsenfunktion

Die Bildung von Schilddrüsenhormon wird durch Wechselwirkungen mit anderen hormonellen Systemen des Organismus auf komplizierte Weise gesteuert. Der entscheidende Regelkreis besteht in der Rückkopplung zwischen Hypophyse und Schilddrüse. Erstere regt die Thyroxinbildung durch das Thyreoidea stimulierende Hormon (TSH) an. Thyroxin hemmt im Gegenzug die TSH-Synthese. Fehlt Thyroxin z. B. durch Mangel an funktionsfähigem Schilddrüsen Gewebe, so kommt es zu exzessiver Steigerung der TSH-Bildung.

Screening-Untersuchung

Das Screening auf eine Schilddrüsenunterfunktion kann prinzipiell durch Bestimmung der Konzentration von freiem oder gebundenem Thyroxin oder durch Messung der TSH-Konzentration im Blut erfolgen. Natürlich kommt auch eine Kombination beider Parameter in Betracht. Die Hypophyse reagiert sehr empfindlich auf einen Mangel an Schilddrüsenhormon und der TSH-Spiegel ist rasch deutlich erhöht. Auf Grund von Regulationsprozessen in den ersten Lebensstagen ist die Bestimmung von Thyroxin als Indikator einer Hypothyreose dagegen weniger verlässlich als die Quantifizierung von TSH. Deshalb erfolgt in Deutschland im Screening in der Regel nur die Messung von TSH.

Standard-Testverfahren

In einem Sandwich-Immunoassay bindet das in der Probe enthaltene TSH an immobilisierte monoklonale Antikörper. Gleichzeitig erfolgt die Bindung eines weiteren Europium-markierten monoklonalen Antikörpers, der in der Tracer-Lösung zugesetzt wird. Nach Inkubation und Beseitigung des Überschusses an zweitem Antikörper wird das Europium aus dem Komplex freigesetzt und mittels zeitverzögerter Fluoreszenzmessung bestimmt.

Beurteilung der Ergebnisse des TSH-Screenings

- Bei Neugeborenen, die zwischen 36 Stunden und 5 Tagen alt sind, sind TSH-Werte bis 15 mU/l normal. Mit zunehmendem Alter der Kinder werden niedrigere Werte gemessen.
- Der Geburtsstress (z. B. Kältereiz) führt zu einem vorübergehenden TSH-Anstieg. Deshalb kann bei einer Blutabnahme in den ersten 36 Lebensstunden der TSH-Wert noch oberhalb des Grenzwertes von 15 mU/l liegen und damit zu einem falsch positiven Ergebnis führen. Danach liegt der TSH-Wert bei der Mehrzahl der gesunden Neugeborenen unter 5 mU/l.
- Bluttransfusionen und die Therapie mit Dopamin können zu falsch negativen Ergebnissen führen. Eine Kontrolle des Screenings ist wenige Tage nach Absetzen der Dopamintherapie bzw. circa 10 Tage nach letzter Transfusion erforderlich.
- Werte von 15 bis 20 mU/l sind kontrollbedürftig, ohne bereits den Verdacht auf Vorliegen einer behandlungsbedürftigen Hypothyreose zu begründen. Konsequenz: Neueinsendung einer Testkarte.
- TSH-Blutspiegel zwischen 20 und 40 mU/l rechtfertigen den Verdacht auf Vorliegen einer Schilddrüsenunterfunktion. In diesem Bereich liegen bei zeitgerechter Blutentnahme häufig die Fälle von transienter Hypothyreose. Neben der Neueinsendung einer Testkarte empfiehlt sich die Kontrolle der Schilddrüsenparameter (freies Thyroxin (fT₄), TSH) im Serum.
- Ab 40 mU/l besteht ein zunehmender Verdacht auf eine umgehend behandlungsbedürftige Schilddrüsenunterfunktion. Die vor Therapiebeginn erforderlichen diagnostischen Schritte umfassen eine Kontrolleinsendung an das Neugeborenen-Screeninglabor und die Blutentnahme für die Bestimmung von TSH, Thyroxin und ggf. weiteren Parametern aus Serum im klinisch-chemischen Routine-Labor.
- Bei sehr unreifen Frühgeborenen bestehen einige Besonderheiten hinsichtlich der Regulation der Schilddrüsenhormone. Es besteht eine Unreife des hypothalamo-hypophysären Systems. Bei circa 90% der Frühgeborenen (<32 SSW Gestationsalter) tritt innerhalb der

ersten Wochen postnatal eine Hypothyroxinämie auf. Eine wiederholte Messung von TSH und auch fT_4 im Abstand von ca. 14 Tagen³ wird empfohlen.

- Ein negatives Screening-Ergebnis schließt eine sich verspätet manifestierende Hypothyreose nicht aus. Bei Symptomen, die für eine Hypothyreose sprechen, ist immer eine Bestimmung der Schilddrüsenhormone notwendig. Kinder mit Down-Syndrom entwickeln eine Hypothyreose u.U. erst verzögert.

Bestätigungsdiagnostik

Der Verdacht auf Vorliegen einer Schilddrüsenunterfunktion im Neugeborenen-Screening erfordert in jedem Fall eine weitergehende klinische Abklärung und Laboranalyse. Eine Behandlung nur auf Grund der Screeningdiagnose ist nicht gerechtfertigt. Die Basisdiagnostik besteht in klinischen und apparativen Untersuchungen: Sonographie der Schilddrüse u. a. und der Messung von TSH, peripheren Schilddrüsenhormonen (fT_3 und fT_4) und weiteren Parametern (z. B. Schilddrüsen-Antikörper) im Serum. (Vergl. Leitlinie Angeborene Hypothyreose, Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin e.V.⁴)

Zu berücksichtigen ist, dass die klinischen Symptome der angeborenen primären Schilddrüsenunterfunktion in der Mehrzahl der Fälle in den ersten Lebenstagen gering ausgeprägt sind. Die in Lehrbüchern oft aufgeführten Zeichen einer konnatalen Hypothyreose, wie vergrößerte Zunge, Hypotonie oder Obstipation fehlen in den ersten Tagen in der Regel. Keineswegs darf das normale äußere Erscheinungsbild eines Kindes Anlass zu der Annahme geben, eine umgehende Abklärung eines positiven Screening-Befundes oder eine Behandlung seien nicht notwendig. Da eine ausreichende Versorgung mit Thyroxin u. a. für die Entwicklung des zentralen Nervensystems erforderlich ist, muss eine Behandlung so früh wie möglich einsetzen. Nur eine ausreichende Thyroxinversorgung ermöglicht eine normale Differenzierung der Hirnzellen. Eine durch Thyroxinmangel hervorgerufene gestörte Entwicklung kann später nicht mehr kompensiert werden. Ein pädiatrischer Endokrinologe sollte von Beginn an hinzugezogen werden.

Therapie

Die konnatale primäre Hypothyreose wird durch die Substitution von Schilddrüsenhormon behandelt. Ziel ist ein möglichst frühzeitiger Behandlungsbeginn. Die Therapie ist lebenslang erforderlich. Eine kontinuierliche Überwachung der Therapie durch einen Endokrinologen ist erforderlich zur regelmäßigen Anpassung der Schilddrüsenhormondosis. Entwicklungstests sind zur Dokumentation einer normalen Entwicklung erforderlich.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

³ Siehe Stellungnahme der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin e. V. (GNPI): „TSH-Screening bei sehr unreifen Frühgeborenen (< 32 SSW)“;

<https://www.gnpi.de/cms2/images/attachments/stellungnahmen/TSH-Screening-Fruehgeborene-2.pdf> (Stand 12.01.2020)

⁴ Siehe AWMF-Leitlinie 027/017; <https://www.awmf.org>

Adrenogenitales Syndrom vom Typ des 21-Hydroxylase-Mangels

Biochemische Grundlagen

Beim Adrenogenitalen Syndrom (AGS) handelt es sich um eine Gruppe von autosomal-rezessiv vererbten Störungen in der Biochemie der Nebennierenrindenhormone. Als Zielkrankheit des Neugeborenen-Screenings wird in Deutschland allgemein der 21-Hydroxylasemangel definiert. Andere Störungen werden meist nicht erfasst. Je nach Ausprägung der Aktivitätsverminderung der 21-Hydroxylase kommt es zum Cortisol- und Aldosteronmangel und zum Anstau von 17-Hydroxy-Progesteron (17-OHP), das zu Testosteron metabolisiert werden kann. Zusätzlich kommt es zum Anstieg des 21-Desoxycortisols, das durch die 11 β -Hydroxylase aus dem angestauten 17-Hydroxy-Progesteron gebildet wird.

Der 21-Hydroxylase-Mangel tritt in Mitteleuropa mit einer Häufigkeit von etwa 1: 14.000 Neugeborenen auf.

Klinische Erscheinungsformen

Aus den hormonellen Veränderungen resultieren verminderte Stresstoleranz, Salzverlust und beim weiblichen Neugeborenen ein intersexuelles Genitale unterschiedlicher Ausprägung. Männliche Neugeborene haben ein unauffälliges äußeres Genitale. Eventuell besteht eine verstärkte Pigmentierung des Skrotums. Die Symptomatik hängt vom Ausmaß des Aktivitätsverlustes der 21-Hydroxylase ab. Je geringer die Restaktivität des Enzyms ist, desto ausgeprägter sind die Symptome.

Schon in der Neugeborenenperiode, d. h. ab der zweiten Lebenswoche, kann die Störung des Mineralhaushaltes in eine lebensbedrohliche Salzverlustkrise einmünden, die durch Erbrechen, Exsikkose und eine hyperkaliämische Azidose charakterisiert ist. Die Vermeidung einer solchen plötzlichen Stoffwechseldekompensation bei äußerlich unauffälligen männlichen Neugeborenen ist die wichtigste Aufgabe des AGS-Screenings.

AGS-Screening

Die Untersuchung zur Früherkennung des 21-Hydroxylase-Mangel AGS basiert entsprechend den Vorgaben der Kinder-Richtlinie auf der quantitativen Bestimmung des 17-Hydroxy-Progesterons mit Hilfe eines Immunoassays. Um nicht zu viele Kontrollanforderungen zu produzieren, wird beim AGS-Screening in Kauf genommen, dass mildere Formen im Screening unentdeckt bleiben. Außer bei dem 21-Hydroxylase-Mangel findet man unter Umständen auch beim 11-Hydroxylase-Mangel erhöhte Konzentrationen von 17-Hydroxy-Progesteron. Andere Ursachen einer Salzverlustkrise werden durch das Screening mittels 17-OHP-Bestimmung nicht entdeckt.

Testprinzip

Das Screening erfolgt mit dem z. Zt. in der Kinder-Richtlinie geforderten Testverfahren. In einem kompetitiven indirekten Immunoassay bindet das in der Probe enthaltene 17-OHP an spezifische lösliche Kaninchen-Antikörper und konkurriert dabei mit zugesetztem Europium-markiertem 17-OHP. Die Antigen-Antikörperkomplexe binden an immobilisierte Anti-Kaninchen-Antikörper. Nach Inkubation und einem Waschschrift wird Europium aus dem Komplex freigesetzt und mittels zeitverzögerter Fluoreszenzmessung bestimmt.

In Deutschland ist die Angabe der Konzentration von 17-OHP in zwei verschiedenen Maßeinheiten gebräuchlich (ng/ml oder nmol/l). Dadurch kann es leider zu Missverständnissen kommen. Unser Labor verwendet die Einheit nmol/l. Die Einheiten lassen sich leicht umrechnen: der Umrechnungsfaktor von ng/ml in nmol/l ist $\times 3,026$.

Unabhängig von genetisch bedingten Krankheiten wird das Ergebnis einer 17-OHP-Bestimmung bei Kindern von verschiedenen Faktoren z. T. sehr stark beeinflusst:

- Alter bei der Blutabnahme
- Reife des Kindes (Gestationsalter, Geburtsgewicht)
- Stressfaktoren wie z. B. schwere Erkrankungen

Zur Befundung wurden aus diesem Grunde verschiedene Referenzbereiche in Abhängigkeit vom Lebensalter und der Reife des Neugeborenen festgelegt. Die Angabe dieser Daten auf dem Einsendeschein ist dementsprechend unbedingt erforderlich.

Gestationsalter [Wochen]	Geburtsgewicht[g]	Grenzwert für 17- OHP[nmol/l]
≤ 27	< 1000	140
28-29	1001-1200	120
30-31	1201-1500	100
32-34	1501-2000	80
35-36	2001-2500	60
≥ 37	>2500	40

Tab.: Zum Zeitpunkt der Drucklegung für unser Labor gültige Grenzwerte für 17-OH-Progesteron in Abhängigkeit vom Gestationsalter bzw. Geburtsgewicht für Neugeborene im Alter von >36 Stunden bis zu 7 Tage

Der in der Kinder-Richtlinie geforderte immunologische Test hat den Nachteil, kreuzreagierende andere Steroide in begrenztem Umfang mit zu erfassen. Falsch positive Resultate treten deshalb besonders häufig bei Frühgeborenen auf. Um den Eltern unnötige Beunruhigung zu ersparen, wird in unserem Labor im Falle eines positiven Ergebnisses aus der vorhandenen Blutprobe, soweit möglich, zusätzlich ein Spektrum aus mehreren Steroiden mittels Tandem-Massenspektrometrie erstellt, das zur Beurteilung herangezogen wird.

Bestätigungsdiagnostik

Mit der Steroidanalytik mittels Chromatographie und Immunoassay, Gaschromatographie/Massenspektrometrie in Plasma oder Urin oder (in unserem Labor) HPLC/Tandem-Massenspektrometrie im Trockenblut auf Filterkarte, lässt sich die Verdachtsdiagnose beweisen. Mit HPLC/Tandem-Massenspektrometrie lässt sich ein 21-Hydroxylasemangel von dem selteneren 11-Hydroxylasemangel abgrenzen, letzterer kann im Gegensatz zum Immunoassay ebenfalls erfasst werden. Zur Diagnostik des Salzverlustes gehört neben der Elektrolytbestimmung im Serum und/oder Sammelurin die Messung von Renin oder der Plasma-Renin-Aktivität. Mittels verschiedener Techniken der Molekulargenetik kann eine Analyse des verantwortlichen Gens die Mutationen nachweisen, die die Krankheit verursachen.

Therapie

Die lebenslang erforderliche Behandlung des AGS ist eine interdisziplinäre Aufgabe unter Leitung eines pädiatrischen Endokrinologen. Der Mangel an Cortisol und Aldosteron wird durch Hormonsubstitution ausgeglichen. Besonderes Augenmerk muss auf dem Management von Stresssituationen liegen. Im Fall einer schweren Krankheit muss die Dosis vorübergehend angepasst werden. Regelmäßige Kontrollen zur Festlegung der therapeutischen Dosis erfordern eine enge

Zusammenarbeit zwischen behandelndem Spezialisten und der Familie. Bei Mädchen ist weiterhin die frühzeitige operative Korrektur der Genitalfehlbildung erforderlich.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Biotinidase-Mangel

Biochemische Grundlagen

Biotin (Vitamin H) ist ein wasserlösliches Vitamin des B-Komplexes. Es ist Coenzym für viele Carboxylierungsreaktionen. Seine Aufgabe besteht in der Bindung von CO₂ sowie der Übertragung der Carboxylgruppe auf die zu carboxylierenden Substanzen. Folgende biotinabhängige Enzyme haben im Intermediärstoffwechsel Bedeutung:

- Acetyl-CoA-Carboxylase
- Pyruvatcarboxylase
- Propionyl-CoA-Carboxylase
- Methylcrotonyl-CoA-Carboxylase

Die verschiedenen Carboxylierungen sind entscheidende Reaktionen im Fettsäuren-, Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel.

Das Enzym Biotinidase wird benötigt:

- zur enteralen Aufbereitung des an Protein gebundenen Biotins
- zur endogenen Rückgewinnung von Biotin aus Biotinylpeptiden und Biocytin

Die Carboxylasen sind als Enzyme funktionelle Proteine. Sie werden wie alle anderen Eiweißstoffe vom Organismus aufgebaut, aber durch Proteinasen auch wieder abgebaut. Die Biotinidase dient dem Recycling von Biotin, das die Carboxylasen nach proteolytischem Abbau als einen Baustein Biocytin (Biotinyl-Lysin) zurücklassen. Fehlt die Biotinidase, wird Biocytin mit dem Urin ausgeschieden. Der Organismus verliert diesen wichtigen Baustein und es kommt zum Mangel an Vitamin H.

Der Biotinidase-Mangel führt also auf zwei Wegen zum Verlust von Biotin, durch Ausscheidung des in Biocytin gebundenen Biotins mit dem Urin und durch fehlende Nutzung von gebundenem Nahrungsbiotin. Ohne Biotinidase steht dem Organismus nur das in freier Form vorliegende Nahrungsbiotin zur Verfügung. Enthält die Nahrung genügend freies Biotin oder wird es als Medikament verabreicht, so wirkt sich der Biotinidase-Mangel nicht aus.

Screening

Biotinidase spaltet Biotinyl-p-Aminobenzoessäure in Biotin und Aminobenzoessäure. Letzteres reagiert in weiteren Schritten mit Nitrit und Naphthyl-Ethylendiammoniumchlorid unter Bildung eines purpurfarbenen Azofarbstoffes, der photometrisch bestimmt wird. Eine Probe ohne oder mit stark verminderter Biotinidaseaktivität wird als positiv bezeichnet.

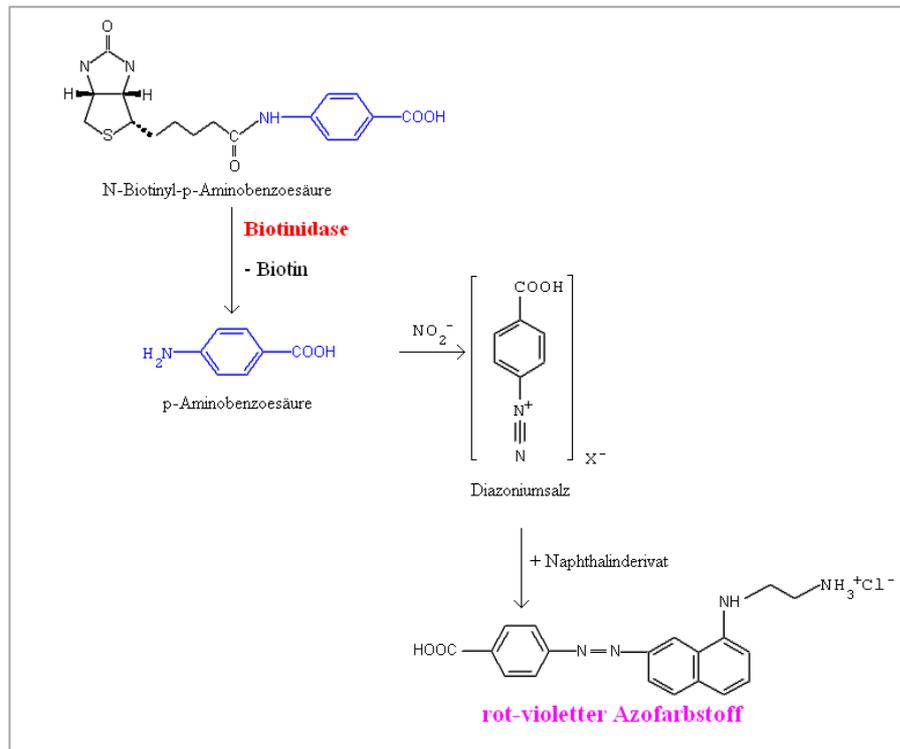


Abb.: Reaktionen des Biotinidase-Nachweises

Klinisches Bild

Das Neugeborene wird vor der Geburt von seiner Mutter mit einem gewissen Vorrat an Biotin ausgestattet. Betroffene Kinder erscheinen deshalb in den ersten Lebenstagen oft unauffällig. Je nach Ernährungsgewohnheit der Mutter können aber, wenn das Kind gestillt wird, Stoffwechsellstörungen des Kindes schon in den ersten Lebenswochen beobachtet werden. Künstliche Milchprodukte enthalten meist mehr Biotin als Muttermilch.

Der Biotinidase-Mangel tritt in unterschiedlichen Schweregraden auf:

- schwerer Defekt (klassischer Biotinidase-Defekt), Restaktivität des Enzyms unter 10%
- partieller Defekt mit Restaktivitäten von 10% bis 30%
- partieller Defekt durch verminderte Bindefähigkeit des in ausreichender Menge produzierten Enzyms an Biocytin (sog. Km-Varianten)
- passagerer Defekt (bei Frühgeborenen, so genannte Enzymunreife)

Die Gefahr einer schweren Stoffwechsellstörung ist bei Enzymaktivitäten unter 10% hoch. Eine Behandlung mit Biotin ist erforderlich. Bei Restaktivitäten bis 30% kann in Einzelfällen die Ausscheidung charakteristischer Metabolite im Urin beobachtet werden. Die Notwendigkeit einer Behandlung muss dann im Einzelfall, u. a. durch quantitative Bestimmung der Biotinidaseaktivität im Serum, in einem Speziallabor festgestellt werden.

Beim schweren Biotinidasedefekt hängt der Beginn klinischer Symptome von der zufällig in der Nahrung vorliegenden Menge freien Biotins ab. Erste Symptome können in den ersten Lebenswochen oder auch erst nach Monaten oder Jahren auftreten. Da die Carboxylasen in allen Geweben vorliegen, führt ihr Ausfall zu sehr unterschiedlichen Krankheitsbildern. Gefürchtet sind vor allem zentralnervöse Störungen einschließlich schwerer Krampfanfälle, die oft bleibende zerebrale Defekte nach sich ziehen. Hör- und Sehverlust bis zur Ertaubung und Erblindung sowie Intelligenzminderung sind typische Zeichen einer länger bestehenden Biotin-Unterversorgung,

ebenso Ataxie, Hauterscheinungen und Haarausfall. Unter Biotin-Therapie bilden sich alle aktuellen Stoffwechselveränderungen rasch zurück, die Degeneration der Nervenzellen bleibt jedoch bestehen.

Der schwere Biotinidasedefekt findet sich etwa 1:60.000 - 1:100.000 Neugeborenen. Der partielle Defekt kommt häufiger vor. Es handelt sich um eine autosomal-rezessiv vererbte Störung. Bei einer Folgeschwangerschaft besteht ein Risiko von 25%, dass wieder ein Kind mit Biotinidase-mangel geboren wird.

Bestätigungsdiagnostik

- organische Säuren im Urin
- Biotinidase-Aktivität im Serum in einem Speziallabor (Einsendung von Serum auf Trockeneis erforderlich)
- Mutationsanalyse

Therapie

Die Substitutionstherapie mit Biotin (5-10 mg/Tag oral) muss früh einsetzen und ist lebenslang erforderlich. Nach bisheriger Kenntnis ist sie sehr wirksam und frei von Nebenwirkungen.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Galaktosämie

Biochemische und klinische Grundlagen

Laktose ist das Hauptkohlenhydrat der Milch und wird im Darm enzymatisch in Glukose und Galaktose gespalten. Die Monosaccharide werden resorbiert. Galaktose kann dem Energiestoffwechsel nur nach Umwandlung in Glucose zugeführt werden. Deshalb wird Galaktose drei enzymatischen Umsetzungen unterworfen. Die drei Enzyme sind: die Galaktokinase (GALK), die Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase (GALT) und die Uridindiphosphat-Galaktose-4-Epimerase (GALE). Angeborene Mangelzustände von einem dieser drei Enzyme führen zu unterschiedlichen Krankheitsbildern mit Manifestation im Neugeborenen- und frühen Säuglingsalter. Die Vererbung erfolgt autosomal rezessiv.

Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase-Mangel (klassische Galaktosämie)

Die klassische Galaktosämie tritt in der deutschen Bevölkerung mit einer Häufigkeit von 1 zu 40.000 auf. Sie kommt durch den (fast) völligen Ausfall der Funktion der GALT zustande. Es handelt sich um eine nach kurzem symptomfreiem Intervall schwer verlaufende, akut lebensbedrohliche Krankheit, die typischerweise Zeichen eines Leber- und Nierenschadens aufweist und unter dem Bild einer Sepsis verlaufen kann. Verstärkter Ikterus und Störung der Blutgerinnung sind oft die ersten Symptome. Seit die Blutentnahme für das Neugeborenen-Screening ab der 36. Lebensstunde erfolgt, sind die Krankheitszeichen bis zur telefonischen Mitteilung des pathologischen Befundes oft noch nicht deutlich ausgeprägt.

Kinase- und Epimerase-Mangel

Während der seltene Galakto-Epimerasemangel (Häufigkeit 1:300.000) ähnlich wie der Transferasemangel verläuft, zeigt der ebenso seltene Galakto-Kinasemangel in der Neugeborenen-Periode weniger eindrucksvolle Symptome. Er wird deshalb oft zu spät entdeckt. Hauptmerkmal des Galakto-Kinasemangels ist die beidseitige Trübung der Augenlinse (Katarakt), die schon nach

ziemlich kurzem Bestehen irreversibel sein kann. Sie lässt sich durch laktosefreie Ernährung meist verhüten.

Screening-Untersuchung

Das Screening auf Galaktosämie basiert auf einer Kombination von drei Testen, auf der enzymatisch-photometrischen Bestimmung der Gesamtgalaktose, im positiven Fall auch der Bestimmung von freier Galaktose sowie der Messung der Transferaseaktivität. Die Konstellation bei einem Normalbefund besteht in einem Galaktosespiegel unter 30 mg/dl und nachweisbarer Aktivität der GALT. Die klassische Galaktosämie kann durch Bestimmung der GALT-Aktivität auch ohne Milchfütterung diagnostiziert werden. Epimerase- und Kinasemangel, können nur nach ausreichender Gabe von Milch entdeckt werden (mindestens eine volle Mahlzeit, Blutentnahme zwei Stunden nach der Nahrungsaufnahme), da ihr Nachweis auf der Messung der Galaktosekonzentration beruht.

Messung von Galaktose+Galaktose-1-Phosphat

Als ein Marker für eine Galaktosämie dient der Gesamtgehalt an Galaktose und Galaktose-1-Phosphat. Nach einer Fixierung der Proteinanteile der Probe werden Galaktose-1-Phosphat und Galaktose wässrig eluiert. Aus Galaktose-1-Phosphat wird durch Phosphatase freie Galaktose abgespalten. Diese wird durch zugesetzte Galaktose-Dehydrogenase zum Lacton oxidiert unter Reduktion von ebenfalls zugesetztem NAD^+ zu NADH . Letzteres reagiert mit einem anschließend zugesetzten Mix aus Diaphorase und farblosem INT-Substrat unter Bildung eines gefärbten reduzierten Produktes, das photometrisch bestimmt wird. Der Gehalt des Blutes an freier Galaktose wird durch entsprechenden Reaktionsansatz ohne Phosphatase gemessen.

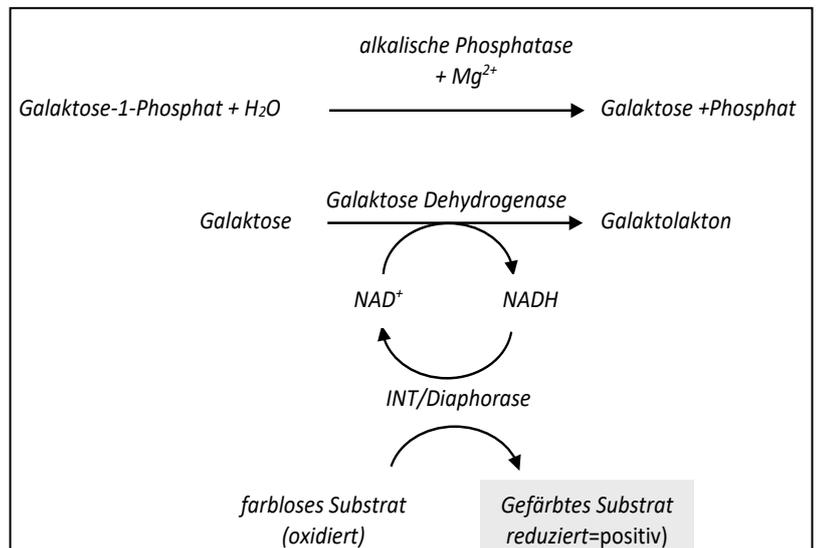


Abb.: Reaktionen des Galaktose- und Galaktose-1-Phosphat-Nachweises

Aktivitäts-Bestimmung der Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase

Der zu untersuchenden Probe werden Galaktose-1-Phosphat und UDP-Glucose zugesetzt, die durch die zu bestimmende Transferase zu UDP-Galaktose und Glucose-1-Phosphat umgesetzt werden. Letzteres wird durch weitere in der Probe enthaltene Enzyme umgesetzt und oxidiert, wobei ebenfalls der Probe zugesetztes NADP⁺ zu NADPH reduziert wird. NADPH wird fluorimetrisch bestimmt.

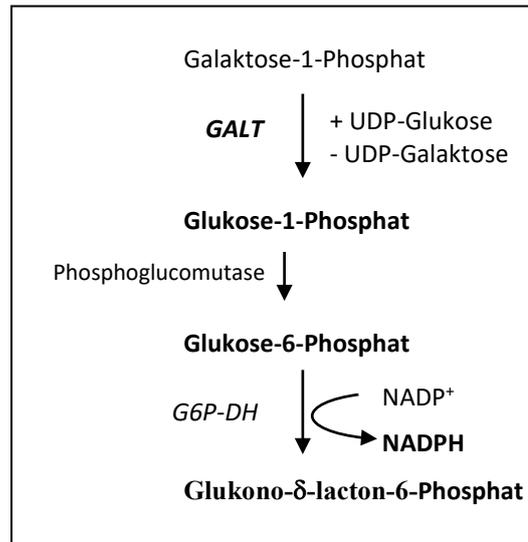


Abb.: Reaktionen des GALT-Nachweises

Bestätigungsdiagnostik

- Konzentration von Galaktose + Galaktose-1-Phosphat im Vollblut
- Enzymaktivität der Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase in Erythrozyten
- Mutationsanalyse der GALT auf Chromosom 9p13

Mögliche Ursachen für falsch positive Ergebnisse im Screening

- erniedrigte Aktivität der GALT durch Zerstörung des Enzyms auf der Testkarte (Hitzeeinwirkung, Desinfektionsmittel)
- erhöhte Galaktose-Konzentration durch Kontamination der Testkarte mit Milch

Mögliche Ursachen für falsch negative Ergebnisse im Screening

- Bluttransfusion vor Blutgewinnung

Therapie

Die Therapie der Galaktosämie besteht in der sofortigen Umstellung auf eine Diät, die in den ersten 6 Lebensmonaten laktosefrei sein muss. Für das Säuglingsalter gibt es spezielle Milchzubereitungen auf Sojabasis. Eine Einschränkung der Galaktosezufuhr durch laktosefreie und galaktosearme Ernährung ist lebenslang erforderlich. Ein prinzipielles Problem besteht darin, dass die endogene Galaktoseproduktion im intermediären Stoffwechsel therapeutisch nicht beeinflusst werden kann. Therapie und Langzeitbetreuung müssen in Zusammenarbeit mit einem erfahrenen Stoffwechselzentrum erfolgen.

Trotz frühzeitigem Therapiebeginn und konsequenter Diät ist die Prognose der klassischen Galaktosämie nicht so gut wie erhofft. Mögliche Langzeitfolgen bestehen in neuropsychologischen und neurologischen Störungen, Beeinträchtigung der Funktionen von Leber und Nieren, Katarakt und bei Mädchen gestörter Pubertätsentwicklung (hypergonadotroper Hypogonadismus).

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Phenylketonurie (PKU) und Hyperphenylalaninämie (HPA)

Biochemie

Phenylalanin ist eine für den Menschen essentielle Aminosäure. Sie wird mit der Nahrung im Überschuss aufgenommen. Phenylalanin wird enzymatisch durch die Phenylalaninhydroxylase zu

Tyrosin abgebaut. Tetrahydrobiopterin ist ein Cofaktor. Wird dieser Stoff aufgrund erblicher Störungen nicht genügend bereitgestellt, bleibt die Umsetzung unvollständig, eine Hyperphenylalaninämie ist die Folge. Das beim Defekt der Phenylalaninhydroxylase angestaute Phenylalanin wird über alternative Stoffwechselwege abgebaut. Phenyllessigsäure und Phenylbrenztraubensäure sind als typische Stoffwechselprodukte beim Erkrankten nachweisbar. Gleichzeitig tritt ein Mangel an Tyrosin auf. Die Verstoffwechslung des Phenylalanins erfolgt ganz überwiegend in der Leber. So können Funktionsstörungen der Leber Ursache einer passageren Hyperphenylalaninämie sein.

Die Phenylketonurie (PKU) ist die häufigste angeborene, autosomal-rezessiv vererbte Störung im Stoffwechsel der Aminosäuren. Die Häufigkeit beträgt in der deutschstämmigen Bevölkerung ca. 1:10.000, bei Kindern von Migranten kann sie häufiger sein.

Klinisches Erscheinungsbild

Die Schwere des Krankheitsbildes richtet sich nach dem Grad des Aktivitätsverlustes der Phenylalaninhydroxylase und der daraus resultierenden Erhöhung der Phenylalanin-Konzentration im Blut. Man unterscheidet:

- klassische Phenylketonurie mit Phenylalanin von $>1200 \mu\text{mol/l}$
- milde Phenylketonurie mit Phenylalanin von $600-1200 \mu\text{mol/l}$
- Hyperphenylalaninämie $150-600 \mu\text{mol/l}$

Bei unbehandelter Phenylketonurie schädigen die erhöhten Konzentrationen von Phenylalanin und dessen Stoffwechselprodukte das sich entwickelnde Gehirn. Eine schwere geistige Behinderung sowie Anfallsleiden und psychomentele Störungen sind die Folge.

Screening-Untersuchung

Die Aminosäure Phenylalanin findet sich im Blut von Neugeborenen sowohl aufgrund der Freisetzung aus der Nahrung als auch durch den Abbau von körpereigenem Eiweiß. Bei Funktionsstörungen der Phenylalaninhydroxylase kommt es auch ohne Milchfütterung zu einem Anstieg der Konzentration des Phenylalanins in einen pathologischen Bereich. Mit genügend empfindlichen Labortests kann die klassische Phenylketonurie deshalb unabhängig von der Ernährung nach der 36. Lebensstunde sicher diagnostiziert werden.

Mit der Tandem-Massenspektrometrie werden die Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin aus einer Trockenblutprobe bestimmt. Die Berechnung des Verhältnisses Phenylalanin zu Tyrosin ist ein weiteres Beurteilungskriterium. Bei Gesunden, d.h. Personen mit ausreichend funktionstüchtiger Phenylalaninhydroxylase, bildet sich ein Konzentrationsverhältnis von Phenylalanin zu Tyrosin von 2:1 bis 1:2 aus. Der entsprechende Quotient liegt also für Gesunde bei 0,5 bis 2,0. Bei behandlungsbedürftiger Hyperphenylalaninämie/Phenylketonurie ergibt sich beim nicht therapierten Neugeborenen in der Regel ein Wert von deutlich über 2,5.

Bestätigungsdiagnostik

Bei Krankheitsverdacht ist eine rasche stationäre Einweisung (innerhalb von 1-2 Tagen) zur weiteren Diagnostik in einem Stoffwechselzentrum zu veranlassen. Zur Diagnostik gehören:

- quantitative Aminosäureanalyse im Plasma zum Nachweis einer erhöhten Phenylalanin- und verminderten Tyrosinkonzentration

Zum Ausschluss eines Tetrahydrobiopterin-Cofaktor-Mangels Durchführung eines BH_4 -Tests (Messung von Phenylalanin im Plasma nach Gabe von Tetrahydrobiopterin)

- Messung der Pterine im Urin

- Bestimmung der Aktivität der Dihydropteridin-Reduktase
- Mutationsanalyse des Gens für die Phenylalaninhydroxylase

Therapie

In der Regel ist eine Therapie erst bei Phenylalanin-Werten von $>600 \mu\text{mol/l}$ (10 mg/dl) erforderlich. Diese sollte in einem Stoffwechselzentrum eingeleitet und langfristig in Kooperation von örtlichem (Kinder-)arzt und Stoffwechselexperten unter Einbeziehung von diätetischer und psychosozialer Beratung durchgeführt werden.

Die Aufnahme von Phenylalanin mit der Nahrung wird so weit reduziert, dass der Phenylalanin-Spiegel im angestrebten therapeutischen Bereich liegt:

Säuglingsalter bis 10 Jahre $40\text{-}240 \mu\text{mol/l}$ ($0,7\text{-}4 \text{ mg/dl}$)

10-16 Jahre $40\text{-}900 \mu\text{mol/l}$ ($0,7\text{-}15 \text{ mg/dl}$)

ab 16 Jahre $40\text{-}1200 \mu\text{mol/l}$ ($0,7\text{-}20 \text{ mg/dl}$)

Wenn auch mit zunehmendem Alter das Behandlungsregime gelockert werden kann, so wird doch zu einer lebenslangen moderaten Diättherapie geraten, um der Entwicklung von Spätschäden vorzubeugen.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Sonderproblem: Maternale PKU

Erhöhte Phenylalaninkonzentrationen im Blut von Schwangeren, die an einer Phenylketonurie leiden, können beim Feten und Embryo schwere Gesundheitsstörungen und Fehlbildungen hervorrufen. Bei mütterlicher (maternaler) Phenylketonurie werden im Fetalblut, selbst wenn das Kind nicht an Phenylketonurie leidet, noch höhere Phenylalanin-Konzentrationen gefunden als bei der Mutter. Eine Frau mit Phenylketonurie muss vor einer geplanten Schwangerschaft mit einer strengen Diät beginnen. Beginnt sie damit erst nachdem die Schwangerschaft festgestellt worden ist, kann schon eine schwere Schädigung des Feten eingetreten sein.

Mädchen und deren Eltern müssen frühzeitig auf das besondere Risiko der maternalen PKU hingewiesen werden. Der angestrebte Bereich der Phenylalanin-Konzentration für Schwangere liegt bei 120 bis $360 \mu\text{mol/l}$ ($2\text{-}6 \text{ mg/dl}$).

Ahornsirupkrankheit (*Maple sirup urine disease, MSUD*)

Biochemie

Die Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin enthalten eine von der Hauptkette des Moleküls abzweigende Methylgruppe und werden deshalb als verzweigt-kettige Aminosäuren bezeichnet. Die Ahornsirupkrankheit (engl. *Maple sirup urine disease, MSUD*) erhielt ihren Namen wegen des Geruchs und Aussehens des Urins, die an Ahornsirup erinnern. Der Erkrankung liegen verschiedene autosomal-rezessiv vererbte Störungen innerhalb des Multienzymkomplexes der verzweigt-kettigen 2-Ketosäure-Dehydrogenase (BCKA-DH) zugrunde. Das Enzym besteht aus 4 Untereinheiten (E1 α , E1 β , E2 und E3) und benötigt Thiaminpyrophosphat als Coenzym. Infolge von Mutationen in den Genen, die für die Untereinheiten kodieren, wird die Gesamtaktivität der BCKA-DH reduziert.

Eine eingeschränkte Aktivität der BCKA-DH führt zur Blockade des Abbaus der verzweigt-kettigen Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin auf der Stufe ihrer Ketosäuren. Diese werden aus den entsprechenden Aminosäuren, welche Bestandteile von Nahrungs- und Gewebeproteinen sind,

durch reversible Transaminierung gebildet. Es kommt zum Anstieg der Konzentration der Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin und zusätzlich von Allo-Isoleucin, sowie der zugehörigen Ketosäuren in allen Geweben und Körperflüssigkeiten.

Die Ahornsirupkrankheit ist mit einer Häufigkeit von ca. 1:200.000 eine seltene Stoffwechselerkrankung.

Klinisches Erscheinungsbild

In Abhängigkeit vom Ausmaß des Enzymmangels erreicht die Krankheit unterschiedliche Schweregrade. Bei der schwersten Form fehlt die Enzymaktivität nahezu vollständig (<2% Aktivität in Fibroblastenkulturen). Bei den verschiedenen leichter verlaufenden Formen sind die Enzymaktivitäten höher (bis zu 30% Restaktivität).

Das Neugeborene mit schwerer Ahornsirupkrankheit wird auffällig, wenn die Konzentrationen von Leucin und 2-Ketoisocaproensäure bestimmte Grenzwerte im Blut und den Geweben übersteigen. Das geschieht typischerweise schon innerhalb der ersten Lebenswoche. Das Neugeborene zeigt Trinkschwäche und entwickelt Symptome einer metabolischen Enzephalopathie bis hin zum Koma. Es tritt der typische süßliche, Ahornsirup-artige oder Maggi-ähnliche Geruch auf. Unbehandelt führt die Erkrankung unter den Zeichen einer progredienten Enzephalopathie zum Tod.

Neben der klassischen, schweren Form werden mildere Verlaufsformen (intermediäre und intermittierende Form) beobachtet. Die Kinder fallen durch Entwicklungsverzögerung, neurologische Störungen und rezidivierende ketoazidotische Entgleisungen auf.

Screening-Untersuchung

Mit der Tandem-Massenspektrometrie werden die Aminosäuren Leucin/Isoleucin (Xle) und Valin (Val) aus einer Trockenblutprobe bestimmt. Da Leucin und Isoleucin die gleiche Molekülmasse haben, kann das Neugeborenen-Screening zwischen den beiden Parametern nicht differenzieren. Das Vorhandensein großer Mengen von Hydroxyprolin (HPro) kann die Messergebnisse beeinflussen, da dieses Massenfragmente der gleichen Masse bildet. Zusätzlich zu den absoluten Konzentrationen der Aminosäuren können verschiedene Quotienten berechnet werden, um die diagnostische Sicherheit zu erhöhen. Da erkrankte Kinder ab dem 4. Lebenstag auffällig werden, kommt einer frühen Abnahme der Blutprobe (36.-72. Lebensstunde) und dem Probenversand ohne Zeitverlust eine besondere Bedeutung zu.

Bei starkem Krankheitsverdacht ist eine sofortige stationäre Einweisung zur weiteren Diagnostik und Therapie-Einleitung in einem Stoffwechselzentrum zu veranlassen. Gleichzeitig sollte eine zweite Trockenblutprobe in das Screening-Labor geschickt werden.

Zurzeit ist noch unklar, ob auch alle milderen Formen der Ahornsirupkrankheit im Neugeborenen-Screening erfasst werden können. Die intermittierende Form zeigt nur episodisch erhöhte Konzentrationen der verzweigtkettigen Aminosäuren im Blut.

Bestätigungsdiagnostik

- quantitative Aminosäureanalyse im Plasma zum Nachweis erhöhter Konzentrationen der verzweigtkettigen Aminosäuren, Allo-Isoleucin ist beweisend
- organische Säuren im Urin (verzweigtkettige Oxo- und Hydroxysäuren)
- ggf. sofortige Bestimmung von Allo-Isoleucin in der Screeningprobe nach Rücksprache und Auftrag mit dem Einsender
- Bestimmung der Enzymaktivität in Fibroblasten

- Mutationsanalyse der Gene der einzelnen Enzymuntereinheiten

Therapie

Die Behandlung und weitergehende Diagnostik erfordern die Einweisung in ein entsprechend spezialisiertes pädiatrisches Stoffwechszentrum.

Unmittelbar nach der Diagnosestellung muss meist eine Entgiftung erfolgen. In Abhängigkeit von der Plasma-Leucin-Konzentration werden extrakorporale Verfahren zur Entgiftung und/oder eine Infusionsbehandlung mit Normalinsulin/Glucose eingesetzt. So schnell als möglich wird mit einer Säuglingsmilch begonnen, die frei von verzweigkettigen Aminosäuren ist. Manche Patienten sprechen auf die hochdosierte Gabe des Cofaktors Thiamin an. Der lebenslang notwendigen Behandlung dient eine eiweißarme Diät mit Supplementierung eines Aminosäuren-Gemisches ohne Leucin, Isoleucin und Valin.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Störungen der β -Oxidation der Fettsäuren

Biochemische Grundlagen

Diese Störungen des Fettsäurestoffwechsels werden durch mitochondrial lokalisierte Enzymdefekte verursacht und in der Regel autosomal rezessiv vererbt. Sie haben eine eingeschränkte metabolische Energiegewinnung zur Folge und führen häufig bereits im Neugeborenen- oder Kleinkindalter zu schweren Stoffwechselentgleisungen. Die Oxidation von Fettsäuren kann bei katabolen Stoffwechsellagen bis zu 80 Prozent der gesamten Energie liefern. Herz- und Skelettmuskulatur sind auf die Energiegewinnung aus Fettsäuren angewiesen. Bei angeborenen Störungen des Fettsäuremetabolismus wird zur Energiegewinnung vermehrt Glukose verwertet. Deshalb kommt es in diesen Fällen nach etwa zwölfstündigem Fasten zu schweren Hypoglykämien bis hin zum Koma.

Die Fette werden im Gewebe überwiegend in Form der Glycerinester langkettiger Fettsäuren mit 16 bis 18 C-Atomen wie Palmitin-, Öl- oder Stearinsäure gespeichert. Ihre Nutzung erfolgt durch stufenweisen Abbau in einem komplizierten Wechselspiel zwischen dem Zytoplasma und den Mitochondrien. Die durch Lipolyse freigesetzten Fettsäuren müssen dafür zuerst durch eine Thiokinase in Thioester mit Coenzym A (Acyl-CoA-Verbindungen) umgesetzt werden.

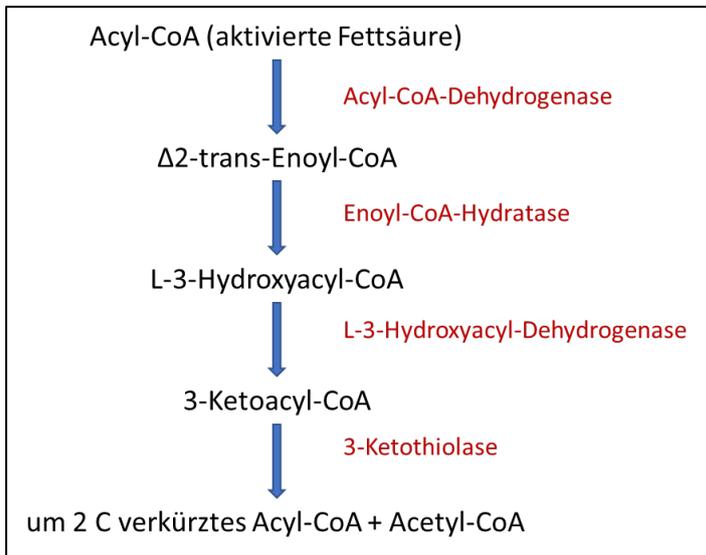
Der intramitochondriale Abbau der Fettsäuren kann grob in drei Teilbereiche gegliedert werden:

- Aktivierung der langkettigen Fettsäuren und deren Transport über die mitochondriale Innenmembran mit Hilfe des so genannten Carnitin-Shuttles
- β -Oxidation der aktivierten Fettsäuren unter Bildung von Acetyl-CoA
- Übertragung der Reduktionsäquivalente auf die Atmungskette

Langkettige Fettsäuren gelangen unter Vermittlung des so genannten Carnitin-Shuttles in das Mitochondrium. Der Carnitin-Shuttle besteht aus drei Komponenten:

- Carnitin-Palmitoyl-Transferase I (CPT I)
- Carnitin-Acylcarnitin-Translokase
- Carnitin-Palmitoyl-Transferase II (CPT II)

Der Carnitin-Shuttle kann nur funktionieren, wenn über den Carnitin-Transporter, der an der Plasmamembran lokalisiert ist, genug freies Carnitin in die Zelle gelangt. Langkettige Fettsäuren (C₁₆-C₂₀) werden als Carnitin-Ester durch die Innenmembran des Mitochondriums transportiert.



Kurz- und mittellangkettige Fettsäuren können die Membran der Mitochondrien frei passieren. In der Matrix des Mitochondriums werden die Fettsäuren als Acyl-CoA in der β -Oxidation schrittweise durch Abspaltung von C_2 -Einheiten verkürzt, bis sie komplett zu Acetyl-CoA oder Propionyl-CoA (ungeradzahlige Fettsäuren) abgebaut sind. Jeder Zyklus der β -Oxidation benötigt mehrere Enzyme (Acyl-CoA-Dehydrogenase, Enoyl-CoA-Hydratase, L-3-Hydroxyacyl-

CoA-Dehydrogenase und β -Ketothiolase). Dabei gibt es drei längenspezifische Acyl-CoA-Dehydrogenasen (für sehr langkettige aktivierte Fettsäuren: *very long chain acyl CoA dehydrogenase* = VLCAD, für mittellangkettige: *medium chain acyl CoA dehydrogenase* = MCAD, für kurzkettige: *short chain acyl CoA dehydrogenase* = SCAD) und zwei längenspezifische L-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenasen (LCHAD, SCHAD). Im Verlauf der β -Oxidation entstehen Reduktionsäquivalente (FADH, NADH). Sie werden in der Atmungskette zur Energiegewinnung herangezogen. Das gewonnene Acetyl-CoA wird in den Citratzyklus eingeschleust. Aus Propionylcarnitin entsteht nach weiteren Reaktionsschritten Succinyl-CoA, das ebenfalls über den Citratzyklus weiter metabolisiert wird.

Klinische Merkmale

Am Metabolismus der Fettsäuren ist eine Vielzahl von Enzymen beteiligt. Ist eines davon auf Grund einer genetischen Veränderung nicht funktionsfähig, kommt es zum Rückstau bestimmter Metaboliten und in Hungerphasen zum Energiemangel. Typisch für Fettsäureoxidationsstörungen ist eine hypoketotische Hypoglykämie, manchmal kombiniert mit einer Hyperammonämie. Die bisher beschriebenen Defekte der Fettsäureoxidation manifestieren sich wenige Tage p.p. oder im Verlauf der Kindheit mit akuten lebensbedrohlichen metabolischen Krisen. Einige Erkrankungen zeigen eine chronische Skelettmuskelschwäche oder akute belastungsabhängige Rhabdomyolysen. Akute und chronische Kardiomyopathien sind ebenfalls beschrieben worden. Die rechtzeitige Erkennung einer solchen Störung kann schwierig sein, da die Kinder vor der ersten Stoffwechselkrise oft völlig unauffällig erscheinen.

Screening-Untersuchungen

Abb.: Die vier Schritte der β -Oxidation der Fettsäuren mit den entsprechenden Enzymen

Mit der Tandem-Massenspektrometrie werden aus einer Trockenblutprobe das

freie Carnitin und ein breites Spektrum von Acylcarnitinen quantifiziert. Für die Diagnostik der Störungen der β -Oxidation der Fettsäuren und des Carnitinzyklus wird das Acylcarnitin-Spektrum der kurz-, mittel- und langkettigen Fettsäuren gemessen. Zusätzlich werden Quotienten zwischen verschiedenen Acylcarnitinen berechnet, um damit die diagnostische Sicherheit zu erhöhen.

- Carnitin-Palmitoyl-Transferase-Mangel Typ I (CPT I): normale bis erhöhte Werte für freies Carnitin, langkettige Acylcarnitine erniedrigt (Palmitoylcarnitin C16 u.a.)

- Carnitin-Palmitoyl-Transferase-Mangel Typ II (CPT II): niedriges freies Carnitin, langkettige Acylcarnitine erhöht (Palmitoylcarnitin C16, Stearylcarnitin C18, Oleylcarnitin C18:1 u. a.)
- Carnitin-Acylcarnitin-Translokase-Mangel: Werte der langkettigen Acylcarnitine erhöht (Palmitoylcarnitin C16, Stearylcarnitin C18, Oleylcarnitin C18:1 u. a.), Konzentration des freien Carnitins erniedrigt
- MCAD-Mangel: Octanoylcarnitin (C₈) erhöht, zusätzlich Hexanoylcarnitin (C₆), Decanoylcarnitin (C₁₀) und Decenoylcarnitin (C_{10:1}) erhöht, C₈/C₂ und C₈/C₁₀ erhöht
- VLCAD-Mangel: Tetradecenoylcarnitin (C_{14:1}) erhöht, Tetradecadienoylcarnitin (C_{14:2}) und Tetradecanoylcarnitin (C₁₄) erhöht
- LCHAD-Mangel: Hydroxy-Hexadecanoylcarnitin (C16OH) und Hydroxy-Lineoylcarnitin (C_{18:1}OH) erhöht

Bestätigungsdiagnostik

- Quantifizierung des freien Carnitins, des Gesamtcarnitins (Carnitin-Status) und der Acylcarnitine im Serum
- Nachweis organischer Säuren im Urin
- Untersuchungen der Enzymkinetik in Fibroblasten oder Lymphozyten
- molekulargenetische Diagnostik zum Mutationsnachweis

Therapie

Das erste Ziel der Therapie besteht in der Vermeidung kataboler Zustände. Weitere Therapiemaßnahmen richten sich nach der zugrunde liegenden Störung und dem aktuellen klinischen Zustand des Patienten. Behandlung und Differentialdiagnose erfordert die Einbeziehung eines erfahrenen Stoffwechsell zentrums.

- Vermeiden von katabolen Phasen bei akuten Erkrankungen und in Fastenperioden
- bei akuten Stoffwechselentgleisungen Glucoseinfusion, evtl. mit Insulin
- bei Defekten im Abbau langkettiger Fettsäuren Gabe niedermolekularer Fettsäuren
- bei Carnitinmangel Supplementation von Carnitin (besondere Vorsicht bei Abbaustörung der langkettigen Fettsäuren, da es zu vermehrter Bildung toxischer Metabolite kommen kann)

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Glutarazidurie Typ 1

Biochemie

Bei der Glutarazidurie Typ 1 handelt es sich um eine Störung im Abbau von Lysin, Hydroxylysin und Tryptophan. Sie wird durch einen Defekt des Enzyms Glutaryl-CoA-Dehydrogenase verursacht. Es häufen sich Glutarsäure und 3-Hydroxyglutarsäure an. Glutarsäure kann durch Bindung an Carnitin als Glutaryl-Carnitin mit dem Urin ausgeschieden werden. Durch den erhöhten Verbrauch von freiem Carnitin kann so ein Carnitinmangel entstehen. In katabolen Situationen wird vermehrt Glutarsäure gebildet. Dies kann zu einer schweren Stoffwechselkrise führen. Die autosomal rezessiv vererbte Erkrankung kommt mit einer Häufigkeit von ca. 1:100.000 Neugeborenen vor.

Man unterscheidet sog. „*low excreter*“ (Glutarsäure ≤ 100 mmol/mol Kreatinin) und „*high excreter*“ (Glutarsäure > 100 mmol/mol Kreatinin) im Urin⁵. *Low excreter* werden im Neugeborenen-Screening nur zu ca. 84% gefunden, während *high excreter* zu 95,6% entdeckt werden⁶.

Klinisches Erscheinungsbild

Ein früher klinischer Hinweis auf Glutarazidurie Typ 1 kann eine Makrozephalie sein. Ansonsten entwickeln sich betroffene Kinder in den ersten Lebensmonaten oft unauffällig. Unbehandelt kommt es in der Mehrzahl der Fälle nach dem ersten Lebensjahr zu einer ersten enzephalopathischen Krise. Auslöser sind meist interkurrente Erkrankungen. Bereits die erste Krise kann ein schweres irreversibles neurologisches Krankheitsbild verursachen. Bei einem kleineren Teil der Fälle verläuft die Erkrankung schleichend.

Screening-Untersuchung

Mit der Tandem-Massenspektrometrie wird Glutaryl-Carnitin (C5-DC) in der Trockenblutprobe bestimmt.

Bestätigungsdiagnostik

- organische Säuren im Urin (Glutar-, 3-Hydroxyglutarsäure)
- Carnitin und Acylcarnitine im Plasma/Serum
- Enzymkinetik in Fibroblasten
- Mutationsnachweis

Therapie

Lysin- und Tryptophan-arme Diät, weitere Therapie in einem Stoffwechselzentrum, Carnitin-substitution (Vergl. AWMF Leitlinie Glutarazidurie Typ I)
vorausgeplantes Notfallmanagement, besonders in den ersten Lebensjahren.

Isovalerianazidämie

Biochemie

Ein Defekt im Stoffwechsel des Leucins ist die Ursache der Isovalerianazidämie. Der Funktionsverlust betrifft das Enzym Isovaleryl-CoA-Dehydrogenase. Isovaleryl-CoA, Isovalerylcarnitin, Isovalerylglycin und 3-Hydroxyisovaleriansäure häufen sich an. Durch den erhöhten Verbrauch von Carnitin und Glycin kann die Notwendigkeit einer Substitution entstehen. Die autosomal rezessiv vererbte Erkrankung kommt mit einer Häufigkeit von ca. 1:100.000 Neugeborenen vor.

Klinisches Erscheinungsbild

Es werden zwei Verlaufsformen der Isovalerianazidämie unterschieden. Bei der akuten neonatalen Form erkranken die Neugeborenen schon in der ersten Lebenswoche an einer Enzephalopathie. Unbehandelt verstirbt ein großer Teil der Kinder schon in der ersten Krise. Die andere Verlaufsform ist chronisch-intermittierend. Episoden von Erbrechen, Lethargie und Koma wechseln mit relativ symptomarmen Stadien ab. Unterschiedliche Grade einer psychomotorischen Retardierung werden beobachtet. Kinder, die initial an der akuten neonatalen Form erkrankt waren, zeigen im weiteren Verlauf auch chronisch-intermittierend Symptome.

⁵ Siehe AWMF S3 Leitlinie 027 – 018 "Glutarazidurie Typ I, Diagnostik, Therapie und Management"; Stand: 01.06.2016, gültig bis 31.05.2021

⁶ Boy N et al. in Ann Neurol. 2018 May;83(5):970-979. doi: 10.1002/ana.25233

Screening-Untersuchung

Isovalerylcarnitin (C5) ist die Indikatorsubstanz im Trockenblut. Die Berechnung des Verhältnisses von Isovalerylcarnitin zu Acetylcarnitin ergibt ein weiteres Beurteilungskriterium. Deutlich über dem Referenzbereich liegende Werte begründen den Verdacht auf Vorliegen einer Isovalerianazidämie. Der Verdacht ist durch weitere Untersuchungen zu bestätigen oder auszuräumen. Das Screening-Labor kann zum Ausschluss falsch positiver Resultate, die z. B. durch Pivalinsäure-haltige Medikamente verursacht werden können, direkt aus der Trockenblutprobe einen unabhängigen Zweittest vornehmen. Schon bei Krankheitsverdacht ist eine stationäre Überwachung in einem Stoffwechsellabor zu veranlassen, da erkrankte Neugeborene sehr schnell dekomensieren können.

Bestätigungsdiagnostik

- Nachweis organischer Säuren im Urin
- Bestimmung von Carnitin und Acylcarnitinen im Plasma
- Enzymkinetik in Fibroblasten
- Mutationsnachweis

Therapie

- an einem Stoffwechsellabor: Diät (eiweißarm oder Leucin berechnet)
- Carnitin- und Glycingabe
- wichtig ist ein gutes Notfallmanagement, besonders in den ersten Lebensjahren.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Tyrosinämie Typ I

Ein Screening zur Früherkennung der hepatorenen Tyrosinämie ist in zahlreichen Ländern Bestandteil des Vorsorge-Grundprogramms und wird seit 2018 auch in Deutschland durchgeführt.

Biochemie

Tyrosin wird über mehrere enzymatischen Schritte zu Fumarat und Acetoacetat abgebaut. Die Ursache der Tyrosinämie Typ 1 ist eine Mutation im FAH-Gen, durch die es zu einem funktionellen oder kompletten Mangel des Enzyms der Fumarylacetylacetyl-Hydrolase kommt. Es kommt zu einem Anstieg des Succinylacetons, das in erhöhten Konzentrationen auf Nieren und Leber toxisch wirkt, die klinischen Symptome sind ähnlich einer Porphyrrie.

Die Tyrosinämie Typ I lässt sich über das Tyrosin selbst nicht sicher finden, häufig ist während der frühen Blutentnahme zum Neugeborenen-Screening der Anstieg der Aminosäure nicht signifikant. Es wird über das Succinylaceton, das beim Vorliegen der Erkrankung in erhöhter Konzentration vorliegt, bestimmt.

Klinisches Erscheinungsbild

Klinische Symptome sind Erbrechen, Diarrhoe, Ikterus, Hypoglykämie, Ödem, Aszites und Magen-darm-Blutungen; eine schwere Sepsis kann als eine zusätzliche Komplikation auftreten. Die Tyrosinämie ist in der ursprünglich deutschen Bevölkerung selten, findet sich aber in bestimmten Gegenden Kanadas, in Indien und einigen Mittelmeerländern relativ häufig. Die Inzidenz in Europa liegt bei ca. 1:250.000, die Erkrankung wird autosomal-rezessiv vererbt.

Analytik

Succinylaceton wird in der Blutprobe zu einem Hydrazon derivatisiert und extrahiert. Dies kann dann tandem-massenspektrometrisch bestimmt werden.

Bestätigungsdiagnostik

Nachweis von Succinylaceton im Urin, ggf. molekulargenetische Identifizierung der Mutation.

Therapie

Die Behandlung erfolgt durch diätetische Eiweißreduktion und medikamentöse Beeinflussung des Tyrosin-Metabolismus mit Nitisinon (NTBC, 2-(2-Nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-zyklohexandion, Orfadin®). Im Verlauf der Erkrankung kann das Succinylaceton, die „Leber“-Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Methionin und das Medikament Nitisinon, aus Serum oder Trockenblut bestimmt werden. Bei suffizienter Therapie sollte das Succinylaceton niedrig bzw. nicht nachweisbar sein.

Schwere kombinierte Immundefekte (SCID)

Unter dem Begriff SCID (schwere kombinierte Immundefekte) werden eine Vielzahl unterschiedlicher Krankheiten zusammengefasst. In den meisten Fällen handelt es sich um eine erbliche Erkrankung. Sie alle zeichnen sich durch ein schwach ausgeprägtes bzw. geschwächtes Immunsystem aus. Betroffene Kinder leiden bereits im Säuglingsalter an einer hohen Infektanfälligkeit gepaart mit schweren Immunkomplikationen. SCID tritt mit einer Häufigkeit von ca. 1:32.500 auf. Unbehandelt versterben die meisten betroffenen Kinder bereits innerhalb der ersten 1-2 Lebensjahre.

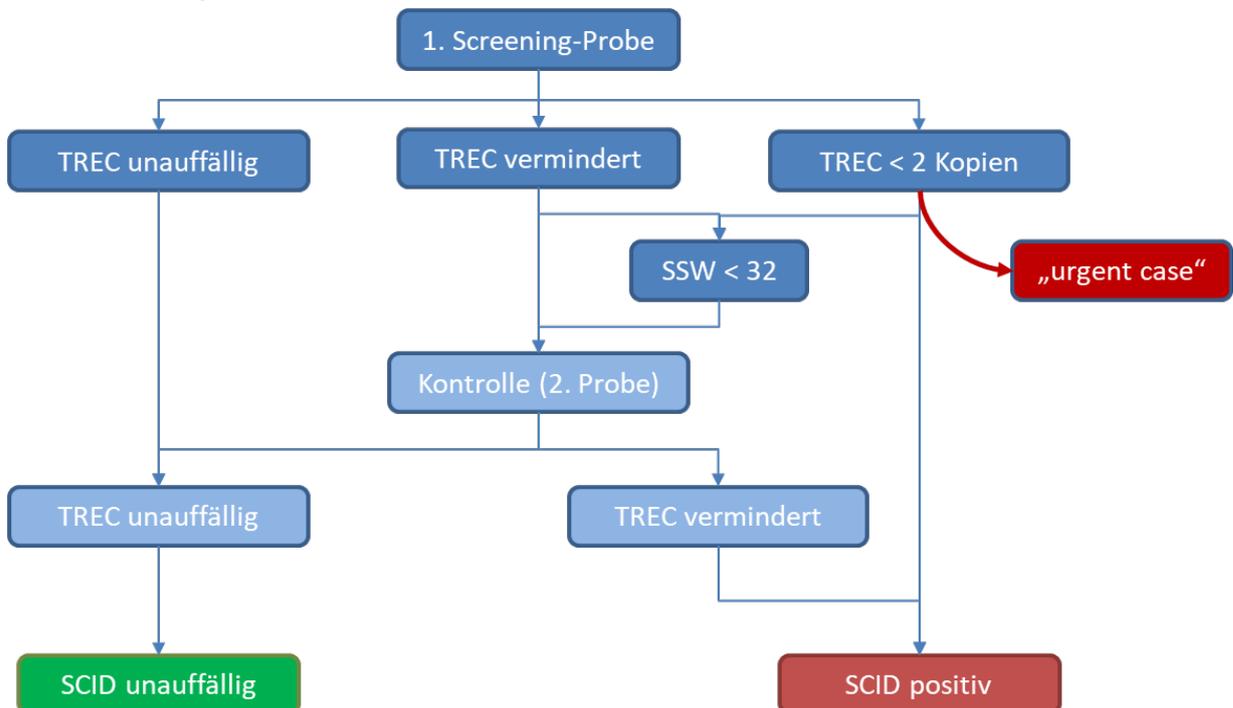


Abb.: Ablauf des SCID-Screenings

Biochemie

Schwere kombinierte Immundefekte treten aufgrund von Störungen in der Entwicklung von T- und B-Lymphozyten auf, welche für die Abwehr von Infektionen verantwortlich sind. Je nach vorliegender genetischer Störung kommt es neben der gestörten Reifung von T-Lymphozyten zur Abwesenheit von B- und/oder NK-Lymphozyten. Während der Lymphozyten-Reifung im Thymus werden aus der Keimbahn-DNA der Immunglobulin-Gene Anteile herausgeschnitten, die nicht

am Rekombinationsprozess der Antigenrezeptoren teilnehmen. Es entstehen die Nebenprodukte TREC (*T-cell receptor excision circles*) und KREC (*kappa-deleting recombination excision circles*). Sie stellen episomale Exzisionsprodukte der Lymphozytenrezeptoren basierend auf der natürlich stattfindenden Rekombination und Affinitätsreifung des T-Zell- und B-Zell-Rezeptors dar. Die TREC- und KREC-Fragmente können mittels PCR detektiert und quantifiziert werden, aus Ihrer Anzahl ist somit ein direkter Rückschluss auf die stattgefundenene Reifung von T- und B-Lymphozyten möglich.

Klinisches Bild

Die ersten Symptome treten bei betroffenen Patienten bereits nach einigen Lebensmonaten auf, wenn die passive maternale (mütterliche Leihimmunität, „Nestschutz“) nach etwa 3 Monaten nachlässt, welche zudem nur bedingt und unzureichend schützen kann. Sie leiden unter Gedeihstörungen, chronischer Diarrhöe, schweren Infektionen (Magen-Darm-Infektionen, Sepsis, Pneumonie), rezidivierendem oder persistierendem Soor und/oder fehlenden Lymphknoten. Auffällig ist die erhöhte Anfälligkeit für opportunistische Infektionen des Atemwegstrakts und des Darms sowie einigen Viren wie dem Cytomegalie- und Adenovirus oder Pilzen. Selten fallen die Kinder bereits im Verlauf der ersten Lebenswochen durch die Entwicklung eines Masern-artigen, morbilliformen Exanthems oder einer ekzematoiden Dermatitis und ggf. einer Hepatosplenomegalie und chronischer Darmentzündung auf (z.B. durch Graft-Versus-Host-Reaktion, Omenn-Syndrom). Zudem kann die schwere kombinierte Immundefizienz auch mit syndromalen Erkrankungen vergesellschaftet auftreten (z.B. DiGeorge-Syndrom, Wiskott-Aldrich-Syndrom, Hyper-IgE-Syndrom, Knochen-Haar-Hypoplasie u.a.).

Weder nach einer Impfung noch nach einer natürlichen Infektion sind die betroffenen Kinder in der Lage, spezifische Antikörper zu produzieren. Auch das Auftreten extra-immuner Symptome wie neurologische Entwicklungsanomalien, sensorisch-neurale Schwerhörigkeit, Leberfunktionsstörungen, sensorineuraler Taubheit oder Mikroenzephalie mit verzögerter neuronaler Entwicklung ist möglich.

Analytik

Der G-BA hat entschieden, dass im Neugeborenen-Screening nur auf T-lymphozytäre Immundefizienz (TREC) untersucht wird. Beim SCID-Screening handelt es sich um einen molekulargenetischen Test. Aus der Trockenblutkarte wird ein Stanzling (1,5-3,2 mm Durchmesser) entnommen und die DNA extrahiert. Bei der anschließend durchgeführten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden Primer eingesetzt, die das TREC-Fragment amplifizieren. Mit einer verzögerten Fluoreszenzmessung wird das TREC Signal detektiert. Da betroffene Patienten kein oder nur wenig TREC aufweisen, kommt es während der PCR nicht, oder nur im geringen Maße, zur Amplifikation dieses Fragments. Als interne Kontrolle wird in jeder Probe das β -Aktin mitbestimmt. Hierbei handelt es sich um ein „Housekeeping-Gen“ welches in jedem Fall amplifiziert wird, sofern die PCR erfolgreich verlaufen ist. Liegt der Anzahl der TREC-Kopien pro μ L unterhalb der Cutoffs so besteht der dringende Verdacht auf das Vorliegen eines schweren kombinierten Immundefekts. Das Screening-Labor wird dann entweder eine Kontrolle des Screenings anfordern oder sofort eine weitere Abklärung in einer CID-Klinik, bei einem schweren Mangel in einem CID-Zentrum, empfehlen.

Bestätigungsdiagnostik

- Durchführung eines Fluoreszenz-assoziierten-Cell-Sortings (FACS) zur Überprüfung des Vorhandenseins von T-Lymphozyten
- Abklärung weiterer klinischer Anzeichen
- Mutationsanalyse

Therapie

Die Minimierung des Infektionsrisikos und das Einhalten strikter Hygienemaßnahmen sind von großer Wichtigkeit für die betroffenen Patienten. Bei einem schweren Mangel sollten die Kinder sofort isoliert werden. Ein sofortiges Abstillen bzw. eine Stillpause bis zur endgültigen Abklärung der Diagnose ist empfohlen (G-BA, zum Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Kinder-Richtlinie: Screening von Neugeborenen zur Früherkennung von SCID). Eine allogene Transplantation mit Blutstammzellen, Knochenmark oder Nabelschnurblut ist derzeit die einzige kurative Therapie für SCID.

Sichelzellerkrankheit (SCD)

Ursache der Sichelzellerkrankung ist eine Fehlbildung des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin (Hb). Das adulte Hämoglobin A (HbA) ist ein Tetramer aus zwei α - und zwei β -Globinketten, welches vier Moleküle Häm als Sauerstofftransportmedium enthält. Beim Neugeborenen findet sich zunächst überwiegend (60-80%) das fetale Hämoglobin (HbF), das aus zwei α - und zwei β -Globinketten gebildet wird. Letztere werden im Zuge der Synthese von HbA zunehmend durch β -Ketten ersetzt. Im Falle einer Sichelzellerkrankung finden sich an dieser Stelle mutierte β -Ketten. Das resultierende Hb wird als HbS bezeichnet. Die Vererbung erfolgt autosomal rezessiv. Heterozygote Merkmalsträger, die nicht erkranken, bilden HbA und HbS. Dagegen zeigen Compound-Heterozygote mit zwei unterschiedlich mutierten β -Ketten wie HbS und HbC (HbSC-Krankheit) oder die Merkmalsträger für HbS und β -Thalassämie ein der Sichelzellerkrankung ähnliches Krankheitsbild. Eine β -Thalassämia major, bei der kein HbA gebildet wird, kann im Screening gefunden werden, die weniger schwere β -Thalassämia intermedia und β -Thalassämia minor werden meist nicht erkannt.

Aufgrund der durch die Mutationen hervorgerufenen besonderen Eigenschaften des Hb nimmt die Verformbarkeit der Erythrozyten deutlich ab, d.h. sie können Kapillaren weniger leicht passieren, was zu Verstopfungen und mehr oder weniger großen Infarkten in verschiedenen Organen, besonders der Milz, führen kann. Unter bestimmten Bedingungen verformen sich die roten Blutkörperchen zu sichelähnlichen Gebilden. Die Erythrozyten werden in der Milz verstärkt abgebaut, eine chronische Anämie ist die Folge. Gefäßverstopfungen rufen z.T. sehr starke Schmerzen und Gewebsnekrosen hervor. Durch Funktionsverlust der Milz sind junge Patienten durch bakterielle Infektionen, insbesondere durch Pneumokokken und Hämophilus, stark gefährdet.

Neugeborene mit Sichelzellerkrankheit erscheinen in den ersten Wochen gesund, solange fetales Hb noch nicht vollständig durch adultes ersetzt ist. Die Anwesenheit von HbF vermindert die o.g. typischen Veränderungen der Erythrozyten. Jedoch besteht bereits nach zwei Monaten ein erhöhtes Infektionsrisiko, das eine prophylaktische Behandlung mit Penicillin und Impfung mit Pneumokokken- und Hämophilusvakzinen erfordert. Die klinische Symptomatik der Sichelzellerkrankheit ist vielschichtig und wenig richtungweisend. Meist treten die typischen Schmerzattacken erstmals im Alter von Monaten oder mehreren Jahren auf. Die Sichelzellerkrankheit kommt in den Mittelmeerländern und Südasien viel häufiger als in

Mitteleuropa vor. In Deutschland sind deshalb bevorzugt Kinder betroffen, deren Familien aus diesen Ländern stammen.

Das Neugeborenen-Screening auf Sichelzellerkrankung gehört in verschiedenen Industriestaaten, z. B. den USA oder Großbritannien, zum Standardprogramm. In einigen Zentren wurden zunächst nur solche Kinder untersucht, deren Eltern aus Ländern mit hohem Erkrankungsrisiko stammten. Wegen unsicherer Angaben zu den Proben wurden dabei zu viele Fälle übersehen, auch waren die Kosten nicht geringer als bei einem alle Neugeborenen einbeziehenden Screening.

Analytik

Zum Nachweis der veränderten Hämoglobine stehen verschiedene Verfahren wie die isoelektrische Fokussierung oder Gelelektrophorese zur Verfügung. Das Screening-Labor Hannover setzt eine Kombination aus molekulargenetischer Untersuchung und der sensitiven Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) oder Tandem-Massenspektrometrie ein.

Bestätigungsdiagnostik

Ein positives Screening-Ergebnis erfordert die sofortige Vorstellung in einem hämatologischen Zentrum, welches auf dem Befund beispielhaft empfohlen wird. Dort geschieht dann eine weitere Differenzierung durch erfahrene Hämatologen.

Therapie

Von Sichelzellerkrankung betroffene Kinder entwickeln unbehandelt eine viele Organe schädigende Erkrankung, die durch akute Schübe lebensbedrohlich verlaufen kann. Die Therapie soll sich an den Richtlinien von Fachgruppen orientieren. Sie erfordert die Einbeziehung speziell erfahrener pädiatrischer Experten. Das Ziel der Frühbehandlung ist eine Verminderung der Sterblichkeit durch Pneumokokken-Sepsis und durch Milzsequestrierung sowie die Vermeidung oder mindestens Verminderung weiterer schwerwiegender Komplikationen.

5q-assozierte spinale Muskelatrophie (SMA)

Die 5q-assozierte spinale Muskelatrophie (SMA) ist mit ca. 90-95% die häufigste aller Formen der spinalen Muskelatrophien, die mit fortschreitenden Lähmungen aufgrund einer Degeneration motorischer Vorderhornzellen einhergeht. Je nach Schwere der Erkrankung treten muskuläre Hypotonie und proximal betonte Schwäche sofort bei Geburt bis zur Adoleszenz auf. Man unterscheidet folgende Formen: Typ I, M. Werdnig-Hoffmann; Beginn im frühen Säuglingsalter, Sitzfähigkeit wird nicht erreicht, meist vor dem ersten Lebensjahr letal verlaufend. Typ II, Intermediärform; Beginn im Säuglingsalter, Gehfähigkeit wird nicht ausgebildet, Lebenserwartung bis zu mehreren Jahrzehnten. Typ III, M. Kugelberg-Welander, Beginn > 1. Lebensjahr, Gehfähigkeit wird ausgebildet, nur geringgradige Einschränkungen bei fast normaler Lebenserwartung. Es kommen zwei funktionelle SMN-Gene auf Chromosom 5 vor, die sich in nur fünf Nukleotiden voneinander unterscheiden. Das SMN-Protein ist für das Wachstum und für Transportprozesse in Axonen sowie für nukleäre Reparaturprozesse mit verantwortlich.

Im Screening wird die homozygote Deletion des „*survival motor neuron*“ SMN1-Gens erfasst. Die Schwere der Erkrankung korreliert mit der Kopienzahl des SMN2-Gens, jedoch nicht immer mit dem Phänotyp.

Analytik

Die homozygote Deletion im SMN1-Gen wird molekulargenetisch bestimmt. Die Ermittlung der Kopienzahl des SMN2-Gens ist nicht Bestandteil des Neugeborenen-Screenings, kann jedoch in unserem Labor bei auffälligem Befund aus bereits vorliegender Trockenblutprobe nachgefordert werden.

Bestätigungsdiagnostik

Eine Kontrolle aus neuer Probe erfolgt i.d.R. nicht, es sei denn, das Labor teilt mit, dass die Analytik gestört ist. Dies kann an einem Ausfall des Kontroll-Gens erkannt werden. Bei auffälligem Befund wird das Labor Sie unmittelbar telefonisch informieren und auf dem Befund ein nahe gelegenes Muskelzentrum empfehlen. Auf <https://dgm-behandlungszentren.org/> kann ein aktuelles Behandlungszentrum online abgefragt werden.

Therapie

Seit einiger Zeit stehen einige Therapieoptionen zur Verfügung, über die man sich über o.a. Link näher informieren kann.

Screening auf Mukoviszidose (Cystische Fibrose, CF)

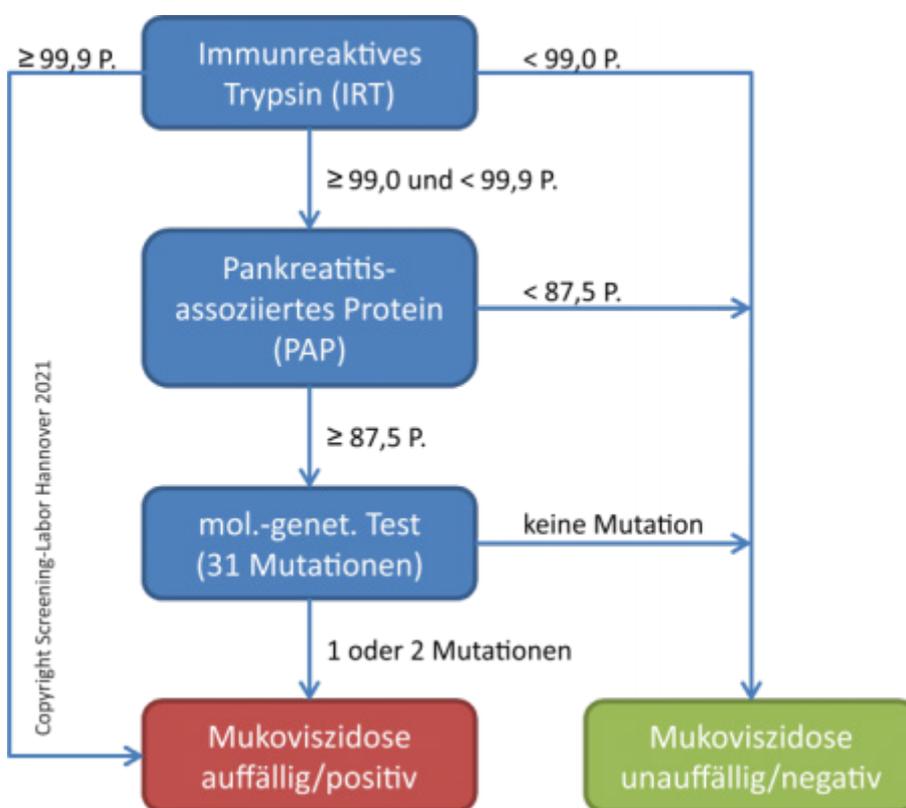


Abb.: Ablauf des Mukoviszidose-Screenings entspr. den Vorgaben der Kinderrichtlinie

Die Mukoviszidose, auch Cystische Fibrose (engl. *cystic fibrosis*, CF) genannt, ist eine der häufigsten erblichen Krankheiten in Mitteleuropa. Die Aufdeckung dieser Krankheit gehört in verschiedenen Ländern zu den regelmäßigen Aufgaben des Neugeborenen-Screenings. Ein generelles Screening aller Neugeborenen auf Mukoviszidose wird in Deutschland seit 01.09.2016 in Ergänzung zum Neugeborenen-Screening durchgeführt.

Biochemie

Die Krankheit hat ihre Ursache in genetischen Veränderungen, die zur fehlerhaften Produktion eines Proteinkomplexes führen, des *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR). Dieser fungiert als Chloridkanal. Aufgrund des Defektes kommt es im Respirationstrakt zu einer Transportstörung von Kochsalz und damit zu einem veränderten transzellulären Wassertransport. Aus dem gestörten Ionentransport resultieren eine Viskositätszunahme des Bron-

chialsekrets und als Folge davon ein Sekretstau. Es treten chronische Obstruktionen und rezidivierende Infektionen gehäuft auf. Letztere gehen mit komplexen Entzündungsmechanismen einher. Dabei spielt die Produktion von Elastase aus neutrophilen Granulozyten und die dadurch bedingte Läsion von Strukturproteinen eine große Rolle.

Ein weiterer wichtiger Pathomechanismus ist die exzessive Freisetzung von DNA aus alten, abgestorbenen Leukozyten und Epithelzellen. Sie ist für eine zusätzliche Steigerung der Viskosität des Bronchialsekrets verantwortlich. Die fortschreitende Destruktion der bronchialen Mukosa führt zu Bronchiektasen und zu progredientem Stabilitätsverlust der Bronchialwände. Dieser bedingt eine Neigung zum Bronchialkollaps, der die Mukostase begünstigt und damit das Infektionsrisiko steigert. Es entwickelt sich ein *Circulus vitiosus*. Die entsprechende Funktionsstörung des Darmepithels verursacht Obstipationen, bei Neugeborenen ggf. einen Mekonium-Ileus. Eingeschränkte Sekretion von Pankreasenzymen führt zu schweren Verdauungsstörungen.

Klinisches Bild

Das Erscheinungsbild der Mukoviszidose ist vielfältig. Bei circa 10% der betroffenen Neugeborenen kommt es zum Mekoniumileus. Schon im Säuglingsalter beginnend beobachtet man chronischen Husten und eine Gedeihstörung mit massigen übelriechenden fettglänzenden Stühlen. Weitere Symptome (je nach Krankheitsdauer und Behandlung): vorgewölbtes Abdomen, Rectumprolaps, rezidivierende abdominelle Beschwerden, Gerinnungsstörung, Hepatopathie, Ösophagus-Varizenblutung, Cholelithiasis, Diabetes mellitus, Elektrolytentgleisungen, rezidivierende bronchopulmonale Beschwerden, Pneumothorax, Hämoptoe, Zyanose, schwer therapierbares Asthma, allergische bronchopulmonale Aspergillose, Pansinusitis, Polyposis nasi. Bei von cystischer Fibrose Betroffenen beginnt eine chronische Entzündung der Bauchspeicheldrüse schon in der Embryonalzeit. Diese Entzündung führt zu einem Rückstau von Trypsin, dem Hauptenzym der Eiweißverdauung. Dadurch kommt es zu hohen Konzentrationen von IRT im Blut. Ein erhöhter Trypsinspiegel im Blut ist somit als Nachweis einer Bauchspeicheldrüsenentzündung und nicht direkt als ein Nachweis der Mukoviszidose anzusehen.

Analytik

Die Vorsorgeuntersuchung auf cystische Fibrose wird in bis zu drei analytischen Schritten durchgeführt: Zunächst wird die Konzentration an immunreaktivem Trypsin (IRT) im Trockenblut bestimmt.

In einem homogenen Sandwich-Immunoassay bindet das in der Probe enthaltene IRT an immobilisierte monoklonale Antikörper. Gleichzeitig erfolgt die Bindung eines zweiten Europium-markierten monoklonalen Antikörpers an eine weitere Bindungsstelle des IRT-Moleküls. Nach Inkubation und dem Entfernen nicht gebundenen markierten Antikörpers wird das Europium aus dem Komplex freigesetzt und mittels zeitverzögerter Fluoreszenzmessung bestimmt.

Liegt der IRT-Test oberhalb der 99,9. Perzentile, wird sofort ein positiver Befund erstellt (*fail safe strategy*). Bei einem Ergebnis zwischen der 99,0. – 99,9. Perzentile wird der PAP-Test (Pankreatitis assoziiertes Protein) durchgeführt. Ist dieser negativ, wird ein unauffälliger Befund erstellt. Bei einem positiven Ergebnis führt das Labor einen molekulargenetischen Test durch. Hier werden mit einer PCR-Methode die 31 in Deutschland häufigsten Mutationen des CFTR-Gens erfasst, diese sind in der Anlage zur Kinderrichtlinie aufgeführt. Bei einem unauffälligen Ergebnis erstellt das Labor einen unauffälligen Befund, bei Vorliegen einer oder zweier Mutationen ist der Befund

positiv. Das Screening-Labor empfiehlt dem Einsender der Untersuchung auf Wunsch ein oder mehrere Zentren in der Nähe.

Es gibt eine durch die Kinderrichtlinie bedingte Besonderheit im Befund: Dieser wird keine Details zur Untersuchung aufweisen. Der G-BA hat festgelegt, dass das Screening-Labor die Details der durchgeführten Teilschritte nur von einer Mukoviszidose-Ambulanz abgefragt werden darf, wenn der empfohlene Schweißtest auffällig ist oder es Probleme in der Durchführung des Schweißtests gibt und wenn die Eltern die Abfrage der Untersuchungsdetails durch Unterschrift eingewilligt haben.

Bestätigungsdiagnostik

- Durchführung einer Schweißanalyse in einem zertifizierten Zentrum
- Feststellung einer Pankreasinsuffizienz, Bestimmung der Pankreas-Enzyme im Stuhl (besonders Pankreas-Elastase) und des Fettes im Stuhl
- Genanalyse (inzwischen mehr als 1000 verschiedene Mutationen bekannt, Verlässlichkeit des Ergebnisses bei Prüfung von 31 Mutationen in der Routine-Diagnostik knapp 90%)

Therapie

Sekretelimination, Physiotherapie

Inhalationstherapie

Antiostruktive/antientzündliche Therapie

Behandlung mit Antibiotika: Die Therapie richtet sich vor allem gegen das CF-typische Erregerspektrum. Neben *Staphylococcus aureus* gehören insbesondere *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*-Komplex und *Stenotrophomonas maltophilia* dazu. Bei der Langzeittherapie und Prophylaxe ist immer auf Wirksamkeit gegen Staphylokokken zu achten.

Bei Pankreasinsuffizienz: fettreiche Kost, evtl. hochkalorische Zusatznahrung, ausreichende Enzym- und Vitamin-Substitution

Eine früh einsetzende Therapie verbessert die gesundheitliche Entwicklung der Patienten vor allem in den ersten Lebensjahren deutlich und führt zu einem Gewinn an Lebenszeit und -Qualität. Sie ist jedoch bisher nicht in der Lage, den Progress der Erkrankung völlig zu unterbinden.

Bei positiven Fällen erbittet das Screening-Labor einen abschließenden Bericht, z. B. Arztbrief, um den Verpflichtungen des Trackings nachkommen zu können.

Ergänzende Zweittests zu den Zielkrankheiten des Neugeborenen-Screenings

Bei einigen Testverfahren kann das Ergebnis mit Hilfe eines methodisch unabhängigen Zweitverfahrens (second-tier) weiter präzisiert werden. Der Zweittest wird unmittelbar nach Vorliegen eines positiven Messergebnisses (z. B. auffälliges 17-Hydroxyprogesteron im Immunassay) eines Standardtest unter Verwendung der Originalblutprobe vorgenommen. Dadurch wird die Rate falsch positiver Screeningbefunde verringert und der prädiktive Wert des Screenings verbessert.

Adrenogenitales Syndrom (AGS)

Der Zweittest wird durchgeführt, wenn die Konzentration von 17-OH-Progesteron im Immunoassay oberhalb des Grenzwertes liegt. Die Methode ist die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). In vielen Fällen kann durch diese Analyse ein AGS mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Eine erhöhte Konzentration von 17-OH-Progesteron und/oder 21-Desoxycortisol sowie eine hohe (17-OH-Progesteron + Androstendion/Cortisol-Ratio) untermauern den positiven Screeningbefund des Immunoassays hinsichtlich eines 21-Hydroxylasemangel-AGS. Zusätzlich kann ein 11 β -Hydroxylasemangel-AGS erkannt werden, da in diesem Fall eine erhöhte Konzentration von 11-Desoxycortisol gemessen wird. In Einzelfällen können aber auch mit dem Steroidprofil falsch positive Ergebnisse erhalten werden.

Ahornsirupkrankheit (*maple sirup urine disease*, MSUD)

Zur weiteren Evaluation von Proben mit erhöhten Konzentrationen der verzweigtkettigen Aminosäuren wird ebenfalls mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) durchgeführt. Gemessen werden die Konzentrationen von Allo-Isoleucin, Leucin, Isoleucin und Valin. Der Nachweis von Allo-Isoleucin beweist die Diagnose Ahornsirupkrankheit.

Isovalerianazidämie (IVA), Pivalinsäure-haltige Antibiotika, 2-Methylbutyryl-Dehydrogenase-Mangel (MBDH)

Die Verdachtsdiagnose einer Isovalerianazidämie wird im Screening auf Grund erhöhter Konzentrationen von Pentanoylcarnitin gestellt. Mit der tandem-massenspektrometrischen Analyse werden im Screening aber mehrere Verbindungen (Isomere) gleichzeitig erfasst. Die second tier Methode trennt die drei Isomere Isovalerylcarnitin, Pivaloylcarnitin und 2-Methylbutyrylcarnitin auf und lässt damit eine sichere Differenzierung und Zuordnung zu einer Erkrankung oder medikamentösen Beeinflussung zu.

Störend ist vor allem Pivalinsäure, die in Medikamenten (einigen Antibiotika) vorkommen kann. Eine exakte Diagnose ist durch eine ergänzende Untersuchung der Probe mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie möglich.

Mit der Methode kann zusätzlich auch ein 2-Methylbutyryl-Dehydrogenase-Mangel erkannt werden; eine sehr seltene Erkrankung mit sehr variablem, zumeist mildem Krankheitsbild.

Weitere selektive bzw. das Neugeborenen-Screening ergänzende Untersuchungen

Wir sind bestrebt, das Neugeborenen-Screening mit weiteren Untersuchungen abzusichern und die Einsender in der Diagnostik weiter zu unterstützen. Deshalb führen wir fortlaufend weitere Testentwicklungen durch und bieten Ihnen diese an. Den aktuellen Stand finden Sie immer auf unserer Web-Präsenz www.metabscreen.de.

Carnitin/Acylcarnitine

Die Notwendigkeit Carnitin und/oder Acylcarnitine zu quantifizieren, ergibt sich ggf. unabhängig von den etablierten Vorsorgeuntersuchungen zur Früherkennung angeborener Stoffwechselstörungen. Die Analytik eignet sich für Plasma, Serum oder Trockenblutproben.

Carnitin wird in Leber und Niere aus Lysin und Methionin synthetisiert. Es wird vor allem als Transportvehikel für langkettige Fettsäuren über die Membran der Mitochondrien benötigt. Fehlt es, können in katabolen Stoffwechsellagen akute Energiemangelzustände mit unter Umständen fataler Folge auftreten. Bei Neugeborenen und Kleinkindern ist die endogene Synthese noch begrenzt, bei parenteraler Ernährung wird oft zu wenig Carnitin zugeführt. Carnitinmangel kann durch Carnitin-bindende Medikamente hervorgerufen werden. In bestimmten Bevölkerungen verhindert ein angeborener Carnitintransporterdefekt die enterale Resorption und die tubuläre Rückresorption von Carnitin und wird so zur Ursache eines Carnitinmangels.

Aminosäuren

Die Bestimmung von Aminosäuren im Trockenblut auf Filterkarten spielt eine gewisse Rolle in der Überwachung der Therapie einiger Stoffwechselkrankheiten. Der Vorteil der Trockenblutmethode besteht darin, dass das Material leicht per Post verschickt und das Blut zu Hause entnommen werden kann. Angewandt wird das Verfahren zur Überwachung von

- Tyrosinämie Typ I (Tyrosin, Methionin zusätzlich zu Succinylaceton und Nitisinon (NTBC))
- Phenylketonurie (Phenylalanin, Tyrosin)
- Ahornsirupkrankheit (Leucin, Isoleucin, Alloisoleucin)

Steroidprofil

Die Methode ist die Hochdruckflüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Mit dieser Methode können mehrere Steroide simultan gemessen werden. Als Untersuchungsmaterial kann Trockenblut und Plasma/Serum eingesandt werden. Das Steroidprofil umfasst die Steroide Corticosteron, 11-Desoxycorticosteron, Progesteron, 17-OH-Progesteron, 21-Desoxycortisol, 11-Desoxycortisol, Cortisol, Androstendion, Testosteron und Dihydrotestosteron.

Die Methode eignet sich zur Differenzialdiagnostik angeborener Steroidbiosynthesedefekte. Die Auswahl der Steroide ermöglicht die Diagnose von 21-Hydroxylasemangel, 17-Hydroxylasemangel und 11-Hydroxylasemangel. Des Weiteren können Störungen der Androgenbiosynthese differenziert werden. Die Methode kann eingesetzt werden zur Diagnostik des Hypercortisolismus und des Hypocortisolismus.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Methode ist der Einsatz zur Therapie-Kontrolle mit

Glucocorticoiden. Beim 21-Hydroxylasemangel zum Beispiel kann durch die simultane Bestimmung mehrerer Steroide gezeigt werden, ob die Androgenvorstufen und die Androgene selbst ausreichend supprimiert sind und gleichzeitig physiologische Cortisolspiegel erreicht werden. Dadurch können zeitgerecht Dosisanpassungen der Medikation verordnet werden. Zur Therapiekontrolle eignen sich besonders im häuslichen Umfeld abgenommene Kapillarblutproben, die auf Filterpapier getrocknet werden. Wir empfehlen die Abnahme einer Blutprobe morgens direkt vor Einnahme der Medikation und 2 Stunden danach. In besonderen Fällen können Tagesprofile sinnvoll sein. Zur genauen Beurteilung benötigt das Labor die Angabe über die Medikamentendosierung und Einnahmezeiten.

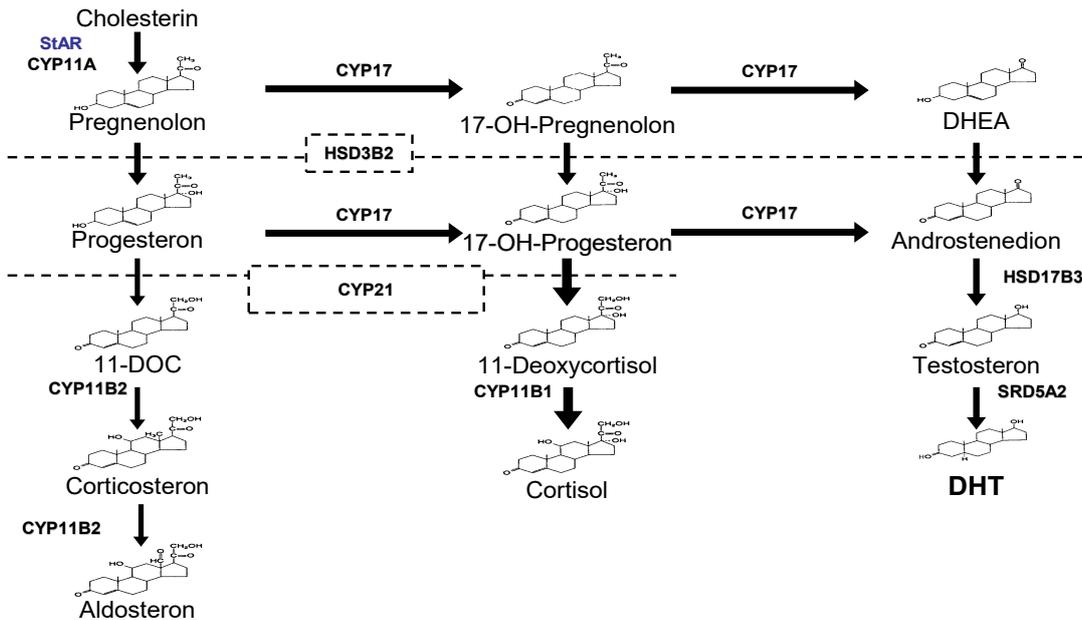


Abb.: adrenale Steroidsynthese

Succinylaceton-Verlaufsbestimmung / Nitisinon (NTBC)

Die Bestimmungen von Succinylaceton und Nitisinon (NTBC), ggf. zusätzlich die Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Methionin, dienen der Überwachung der Therapie der hepatorenen Tyrosinämie. In der Regel werden, wie im Neugeborenen-Screening, Blutproben, die auf Filterpapier angetrocknet sind, an das Labor geschickt. Zusätzlich ist die Bestimmung aus Serum und Plasma möglich.

Biochemische Grundlagen

Für Tyrosinämie Typ I wird als Standardtherapeutikum Nitisinon (2-(2-Nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexandione oder NTBC) eingesetzt. NTBC inhibiert das Enzym 4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase, indem es fest daran bindet. Im Prinzip wird also eine Tyrosinämie Typ I in die schwächere Form des Typ III umgewandelt. Auf diese Weise wird die Konzentration der Tyrosin- und Phenylalanin-Metaboliten unterhalb des Blocks verringert. Zu diesen Metaboliten gehört Fumarylacetoessigsäure ein Substrat, welches von der bei Tyrosinämie Typ I defizienten Fumarylacetoacetat-Hydrolase (FAH) umgesetzt werden muss. Mit der Verminderung des Angebotes an Fumarylacetoessigsäure durch NTBC wird vor allem die Produktion von toxischen Verbindungen wie Succinylaceton verhindert. Bei erfolgreicher Therapie muss die Konzentration von Succinylaceton deutlich abfallen und nur in Spuren messbar sein. NTBC dagegen

muss in therapeutischen Konzentrationen nachgewiesen werden. Der Test dokumentiert sowohl eine ausreichende Dosierung als auch die Compliance des Patienten.

Wichtig ist auch die Optimierung der NTBC-Dosis, da bei jedem Patienten individuelle Wirkspiegel ausreichen können, um eine Bildung des Succinylacetons zu verhindern.

Laboruntersuchung

Zur optimalen Einstellung und Überwachung der NTBC-Dosis bei Tyrosinämie-Patienten werden mittels einer Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) die Nitisinon- und die Succinylaceton-Konzentrationen bestimmt. Zusätzlich zu dieser Untersuchung wird die MS/MS-Bestimmung von Phenylalanin, Tyrosin sowie Methionin als Parameter des Aminosäurespektrums durchgeführt. Als Material können hierbei Trockenblut auf Filterkarten, Serum und Plasma verwendet werden.

Organoazidopathien

Mit der Kombination von Hochdruckflüssigkeitschromatographie und Tandem-Massenspektrometrie können durch Untersuchung von Trockenblut auf Filterkarten weitere Erkrankungen aus dem Formenkreis der Organoazidopathien erkannt werden, die zurzeit in Deutschland nicht zu den Zielkrankheiten des erweiterten Neugeborenen-Screenings nach der Kinder-Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses gehören, wie z. B. die Propionazidämie und die Methylmalonazidurie.

Biochemie

Bei Anwendung der Methode des Neugeborenen-Screenings fallen als charakteristische Stoffwechselprodukte u. a. Propionylcarnitin und Butyrylcarnitin auf. Sie stammen aus dem Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren oder der β -Oxidation der Fettsäuren. Der verstärkte Eiweißabbau der ersten Lebensstage vergrößert die Gefahr einer Anreicherung toxischer Stoffwechselprodukte. Ist es zu einer Stoffwechselentgleisung gekommen, so treten bevorzugt neurologische Symptome auf, die nicht in allen Fällen voll reversibel sind. Im Verdachtsfall ist eine möglichst frühe Abklärung in einem Stoffwechselzentrum erforderlich.

Defekte des Harnstoffzyklus

Defekte der Harnstoffsynthese finden sich bislang nicht unter den Zielkrankheiten der Kinder-Richtlinie. Mit der zur Verfügung stehenden Technik des Neugeborenen-Screenings lassen sich in begründeten Fällen die Citrullinämie und die Argininbernsteinsäure-Krankheit erfassen. Der Nachweis des Ornithintranscarbamylase-Mangels (OTC-Mangel) erfordert einen getrennten Analysenlauf.

Biochemie

Die genannten Stoffwechselkrankheiten verursachen einen Rückstau stickstoffhaltiger Metaboliten. Der OTC-Mangel behindert die Synthese von Citrullin aus Ornithin und Carbamylphosphat. Ein charakteristischer, auf einem Nebenweg entstehender Metabolit ist Orotsäure, die im Urin ausgeschieden wird, aber in erhöhter Konzentration auch im Trockenblut nachweisbar ist. Die Citrullinämie beruht auf einem Defekt der Argininosuccinat-Synthetase. Ihre Aufgabe besteht in der Synthese von Argininbernsteinsäure aus Citrullin und Asparagin. Argininbernsteinsäure wird im nachfolgenden Stoffwechselschritt durch Argininosuccinat-Lyase zu Arginin und Fumarsäure metabolisiert. Ist eines der genannten Enzyme funktionsgestört, kommt es zu einem

Rückstau der vor dem Block liegenden Metaboliten. Toxikologisch besonders wichtig ist die Anreicherung von Ammoniak.

Analytik

Für die Untersuchung von Neugeborenen kommen die Quantifizierung von Citrullin und Argininosuccinat und neuerdings Orotsäure im Trockenblut mit Hilfe der tandem-massenspektrometrischen Analyse in Betracht.

Bestätigungsdiagnostik

Orotsäure im Urin, Aminosäuren im Plasma, ggf. molekulargenetische Identifizierung der Mutationen.

Klinisches Erscheinungsbild

Auf Grund der postpartalen Katabolie mit erhöhtem Eiweißumsatz treten Symptome wie Trinkschwäche, Lethargie, Koma, Epilepsie und Hyperventilation schon in den ersten Lebenstagen auf. Besteht ein hoher Ammoniakspiegel für mehr als 24 Stunden, ist mit schweren bleibenden zentralnervösen Defekten zu rechnen. Neben der akut neonatalen sind allerdings auch milde, ggf. spätmanifeste Formen bekannt.

Therapie

Die Behandlung muss so früh wie möglich einsetzen, ggf. ist eine Dialyse erforderlich. Durch Applikation von Arginin, Reduktion von Protein und die Verabreichung von Substanzen wie Benzoat oder Phenylacetat, die über einen zusätzlichen Weg Stickstoff eliminieren, erfolgt eine Senkung des Ammoniakspiegels. Die Konzentration des Citrullins, das untoxisch ist, bleibt unter der Therapie der Citrullinämie hoch.

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (G6PD)

Der G6PD-Mangel ist der häufigste bekannte angeborene Enzymdefekt. In Deutschland liegt die Häufigkeit bei ca. 1:300. Klinische Symptome sind vor allem ein verstärkter Neugeborenen-Ikterus und eine akute hämolytische Anämie durch hauptsächlich intravasale Hämolyse. Die meisten Menschen mit G6PD-Mangel sind allerdings, abgesehen von den erwähnten exogen bedingten Hämolysen und der daraus folgenden Anämie, symptomfrei. Deshalb muss man den angeborenen Enzymmangel auch nicht als Krankheit ansehen, sondern als ein besonderes Merkmal, das allerdings unter bestimmten Voraussetzungen zur Krankheits-Ausprägung führen kann. In den Katalog der Zielkrankheiten der Kinder-Richtlinien ist der G6PD-Mangel nicht aufgenommen worden. Screening-Untersuchungen sind in einigen Ländern Südasiens und des Mittelmeerraumes etabliert. Der G6PD-Mangel wird allen Einsendern als zusätzliche, ergänzende Untersuchung angeboten, da durch Zuzug anderer Bevölkerungsgruppen mit mglw. gehäuften Fällen gerechnet werden kann.

Biochemische und klinische Grundlagen

Das Enzym Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase kommt in allen Zellen vor. Im Energiestoffwechsel spielt es nur eine untergeordnete Rolle, denn nur etwa 5 bis 10% der Glucose wird mit ihrer Hilfe im sogenannten Hexosemonophosphat-Shunt abgebaut und energetisch genutzt. Für die Erythrozyten hat das Enzym dennoch eine große praktische Bedeutung. Hier dient es vor allem der Synthese von reduziertem Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH). Dieses wiederum ist das Substrat der Glutathionperoxidase, welche oxidative Stressoren neutralisiert. Wird nicht genügend NADPH zur Verfügung gestellt, so greifen intrazellulär entstehende

Peroxide, z. B. Wasserstoffperoxid, oder bestimmte Medikamente Zellproteine an, es kommt zur Hämolyse.

Die in Frage kommenden exogenen Noxen finden sich vor allem unter den Medikamenten. Eine Karenzprophylaxe ist in den meisten Fällen möglich. Unter den Nahrungsmitteln ist die Fava-bohne (Saubohne) als Auslöser der Hämolyse bekannt. Daher wird die Störung auch Favismus genannt.

Das Gen für die G6PD liegt auf dem X-Chromosom. Dementsprechend sind vom Vollbild des G6PD-Mangels vor allem Knaben betroffen. Mädchen sind ebenfalls gefährdet, wenn sie homozygote Merkmalsträger sind. Aber auch heterozygote Mädchen können eine erhebliche Unterfunktion des Enzyms aufweisen. Der genetische Hintergrund der Störung ist komplex. Mehr als 400 Varianten sind beschrieben. Die klinischen Erscheinungen sind bei der auch in Deutschland vorkommenden so genannten Mittelmeer-Variante besonders schwer. Diese findet sich naturgemäß häufig bei Kindern, deren Familien aus dem Mittelmeerraum stammen.

Analytik

Durch G6PD wird zugesetztes Glucose-6-Phosphat zum 6-Phosphogluconolacton oxidiert. Damit ist eine Umsetzung von ebenfalls zugesetztem NADP^+ zu $\text{NADPH} + \text{H}^+$ verbunden. Letzteres wird fluorimetrisch zur Berechnung der enzymatischen Aktivität bestimmt.

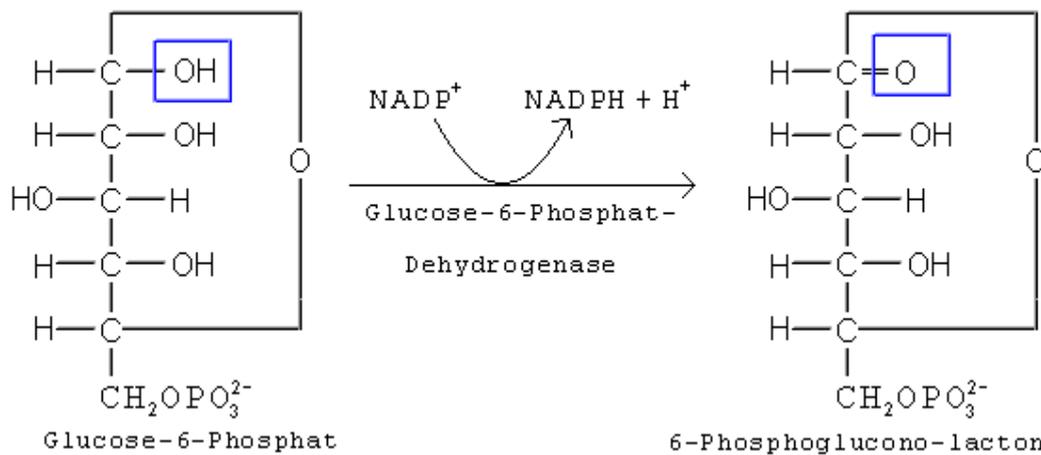


Abb.: Reaktionen des G6PD-Nachweises

Für die Praxis des Neugeborenen-Screenings ist es wichtig zu wissen, dass die G6PD thermolabil ist, also leichter als andere Testparameter durch Einwirkung von Wärme auf der Testkarte zerstört wird. Wärmeeinwirkung kann zu falsch positiven Ergebnissen führen.

Es ist sehr schwierig, einen Grenzwert für die Beurteilung der Enzymaktivität festzulegen. Gegenwärtig gehen wir davon aus, dass eine Enzymleistung von weniger als 25% der durchschnittlichen Aktivität weitere Maßnahmen auslösen sollte.

Die Enzymaktivität der G6PD ist im Blut nicht konstant. Sie hängt vom Alter der Erythrozytenpopulation ab. Nach einer hämolytischen Krise findet man im Blut wegen der überwiegend jungen Erythrozyten eine höhere Enzymaktivität. Dies kann diagnostische Komplikationen verursachen. Aus einer Trockenblutprobe kann bis ca. 4 Wochen nach Blutentnahme die enzymatische Aktivität bestimmt werden, wenn die Karte nicht zu warm verschickt und gelagert worden ist.

Bestätigungsdiagnostik

Quantitative Bestimmung der Enzymaktivität in flüssigem EDTA-Blut in einem hämatologischen Labor. Zur Analyse werden meist 0,4 ml EDTA-Blut benötigt. Empfohlen wird die Verwendung eines EDTA-Mikrocontainers mit 0,4 bis 0,6 ml Aufnahmemenge. Bei Verwendung eines üblichen EDTA-Röhrchens mit 5 ml Volumen kann eine nur geringe Menge Blut zu stark angesäuert und damit hämolytisch werden. Bei Verwendung solcher Röhrchen müssen deshalb mindestens 2 ml Blut abgenommen werden. Der Versand muss ohne Verzögerung erfolgen. Die Probe sollte das Labor schnell erreichen und nicht über das Wochenende versandt werden.

Risikoreiche Medikamente

Menschen mit geringer oder fehlender G6PD-Aktivität können eine hämolytische Anämie entwickeln, vor allem bei Verabreichung von bspw.:

- Acetazolamid
- Co-trimoxazol
- Metamizol
- Methylenblau
- Nitrofurantoin
- Sulfacetamid
- Sulfaethidol
- Sulfamerazin
- Sulfamethozol/Sulfamethoxazol

Vor Gabe von Medikamenten sind immer die Fachinformationen der pharmazeutischen Hersteller die „Rote Liste ©“, die „Gelbe Liste ©“ oder entsprechende Informationen zu beachten!

Bei Neugeborenen ist der mögliche Übergang solcher Substanzen von der Mutter über die Plazenta oder die Milch zu berücksichtigen.

Studien

Unser Labor führt mit einigen Kooperationspartnern diverse Studien durch. Zu einen Teil der Studien, die allen Neugeborenen angeboten werden, finden Sie Informationen auf unserer Webseite www.metabscreen.de.

Ausblick

Das Neugeborenen-Screening wird sich in den nächsten Jahren weiter verändern, neue Techniken werden etabliert werden und es ermöglichen, dass durch den G-BA das Spektrum der Erkrankungen erweitert wird. Aus Trockenblutkarten können bereits heute viele verschiedene Untersuchungen, wie z.B. Infektionsmarker, molekulargenetische Untersuchungen bis hin zu quantitativen Bestimmungen von Medikamenten und essentiellen Vitaminen durchgeführt werden. Wir werden uns bemühen, Ihnen alles in hoher Qualität und Geschwindigkeit anzubieten, bleiben auch weiterhin gerne Ihr Ansprechpartner und schauen optimistisch in die weitere Zukunft der Laboranalytik und Diagnostik angeborener und vielleicht eines Tages auch erworbener Erkrankungen.

