

Andreas Peter Keller
Dr. med.

Retrospektive Untersuchung der Lymphadenitis colli durch nichttuberkulöse Mykobakterien bei immunkompetenten Kindern und Entwicklung einer neuen molekulargenetischen Methode zum Direktnachweis der Erreger.

Geboren am 16.04.74. in Makati, Philippinen
Reifeprüfung am 23.06.94 in Eppingen
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995 bis WS 2002
Physikum am 15.09.97 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 16.05.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Kinderheilkunde
Doktorvater: Priv. –Doz. Dr. med. Walter Haas

Für industrialisierte Länder in Westeuropa und für die U.S.A. wird eine Zunahme von mykobakterieller Lymphadenitis colli (L.a.c.) bei immunkompetenten Kindern, verursacht durch nichttuberkulöse Mykobakterien (NTM) beschrieben. Angesichts dieser Entwicklung wurde die Bedeutung dieser Erkrankung in einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie bei Patienten, die in der Universitätskinderklinik Heidelberg zwischen Januar 1990 und März 1998 stationär aufgenommen wurden, untersucht.

Bei 115 Kindern mit Verdacht auf L.a.c. stellten mykobakterielle Erkrankungen mit 15%, insbesondere durch NTM (14 von 17 Fällen), die zweitgrößte ätiologische Gruppe nach der unspezifischen bakteriellen Lymphadenitis (67%) dar. Die Assoziation klinischer Parameter, insbesondere Schwellungsdauer, Aufnahmetemperatur und Blutsenkungsgeschwindigkeit mit der mykobakteriellen Lymphadenitis (Fall-Gruppe) konnte durch den Vergleich mit L.a.c. anderer Genese (Kontrolle-Gruppe) erstmals statistisch belegt werden und liefert präoperative Hinweise zur Unterscheidung dieser Erkrankungsursachen.

Zur Diagnosesicherung einer Mykobakteriose wurde für *M. avium*, dem häufigsten NTM Erreger der L.a.c., eine hochempfindliche PCR-Methode entwickelt. Diese basiert auf dem simultanen Nachweis zweier bisher als spezifisch für *M. avium* Komplex (MAC) beschriebenen Insertionselementen, IS1245 und IS1311. Durch PCR Untersuchungen von verschiedenen NTM-Spezies neben MAC konnte jedoch erstmals gezeigt werden, daß diese Elemente in *M. malmoense*, *M. non-chromogenicum* und *M. scrofulaceum* vorkommen können. Diese Ergebnisse konnten durch Restriktion, Sequenzierung der Amplifikate und Hybridisierung von genomischer mykobakterieller DNA bestätigt werden.

Nach Optimierung von Aufarbeitungsmethoden zur DNA-Gewinnung aus archiviertem Gewebe wurde die Eignung des PCR-Nachweises zur retrospektiven Diagnosestellung anhand von 35 in Paraffin eingebetteten Lymphknotenpräparate gezeigt. Als problematisch stellte sich dabei die Empfindlichkeit der PCR gegen im Probenmaterial enthaltene Hemmstoffe heraus, die durch keine der getesteten Aufbereitungsmethoden beseitigt werden konnten. Die Verdünnung der eingesetzten DNA ermöglichte den Nachweis unter Inkaufnahme eines Sensitivitätsverlustes der Methode. Die Sensitivität im Vergleich zu dem Gold-Standard der Kultur betrug dennoch 100%. Zur Identifizierung falsch-negativer PCR-Ergebnisse auf Grund einer Hemmung wurde eine interne Kontrolle zum Nachweis einer ungehemmten Amplifikation in jedem Reaktionsansatz entwickelt. Die prospektive Diagnosesicherung einer Mykobakteriose in nativen klinischen Materialien gelang in Lymphknotengewebe, Magensaft, Sputum, Blut, Urin und Liquor mit einer Sensitivität von 100%, einer Spezifität von 90% verglichen mit dem Gold-Standard des kulturellen Nachweises. Der Zeitaufwand betrug nur einen Tag anstelle von mindestens zwei Wochen, die für Kultur benötigt werden. Die vorliegende Arbeit zeigt die Bedeutung der mykobakteriellen Lymphadenitis bei Kindern in Deutschland und beschreibt klinische Parameter, die frühzeitig auf das Vorliegen einer Mykobakteriose hinweisen. Hierdurch ist eine optimale Therapieplanung möglich, die zur Verhinderung von Rezidiven beiträgt. Der hochempfindliche molekulargenetische Nachweis erlaubt eine rasche Diagnosesicherung von Erkrankungen durch NTM und stellt eine wesentliche Ergänzung zur Kultur und Histologie dar.