

Nina Gerdes
Dr. med.

Die PCR als diagnostisches Werkzeug zur Diagnose der Tuberkuloseerkrankung im Kindesalter und Entwicklung eines Modells zur verbesserten Diagnosesicherung der Tuberkulose bei Kindern

Geboren am 18.7.1975

Reifeprüfung am 30.6.1995

Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 95/96 bis SS 02

Physikum am 9.7.97 and der Otto von Guericke Universität Magdeburg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg und Monterrey, Mexico

Staatsexamen am 2.7.02 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. WH Haas

Da die weltweite Inzidenzzunahme der Tuberkulose vor allem die Gruppe der jungen Erwachsenen, die so genannte „Elterngeneration“ betrifft, ist das Infektions- und Erkrankungsrisiko für Kinder eng mit der Inzidenz innerhalb dieser Gruppe verknüpft. In Hochprävalenzgebieten kann daher ein exponentieller Anstieg der Tuberkuloseerkrankungen bei Kindern beobachtet werden. Die oft unspezifische Klinik und die schwache Sensitivität von Erregernachweismethoden erschweren häufig die Diagnosestellung und damit auch eine genaue epidemiologische Erfassung der Kindertuberkulose. Da der klinische Verlauf der Tuberkuloseerkrankung bei Kindern unbehandelt sehr schwer sein kann, ist eine rasche und verlässliche Diagnosesicherung von großer Bedeutung.

Die Rolle der PCR als schnelle Nachweismethode bei der Kindertuberkulose wurde in klinischen Studien bisher nur an kleinen Patientenkollektiven in Ländern mit niedriger Tuberkuloseinzidenz evaluiert. Um die Möglichkeiten der Diagnosesicherung der pädiatrischen Tuberkulose mittels PCR zu untersuchen, wurde daher eine prospektive Studie in Äthiopien als Hochprävalenzland an einem großen Patientenkollektiv durchgeführt. Anhand definierter Einschlusskriterien aus den 3 Kategorien „Kontakt“, „Unterernährung“, und „Symptome“ wurden in der Zeit von August 1998 bis März 1999 268 Kinder im Alter von 0 – 14 Jahren in die Studie aufgenommen. Die Falldefinition der Tuberkulose basierte auf einer modifizierten WHO Definition anhand derer bei 28 Kindern eine Erkrankung an Tuberkulose gesichert werden konnte.

Als Zielsequenz der PCR wurden 123 bp aus der für den *M. tuberculosis*-Komplex spezifischen Insertionssequenz IS6110 gewählt. Im Vorfeld der diagnostischen Probenbearbeitung von kindlichen Sputum- und Magensaftproben wurde die PCR Methode optimiert, sowie Reaktionskontrollen zur Überwachung von Sensitivität und Spezifität etabliert. Zur effektiven Kontrolle der Reaktionshemmung wurde eine interne Reaktionskontrolle entwickelt, die über eine Sequenz verfügte, welche für die verwendeten Primer IS1 und IS2 lesbar war. Es konnten 5 fg mykobakterielle DNA bzw. 10^3 Mykobakterien des Laborstammes H37Rv zuverlässig nachgewiesen werden. Bei der PCR Analyse klinischer Proben wurde eine Sensitivität von 68% und eine Spezifität von 86.6% gegenüber dem Kulturergebnis erzielt. Mittels der internen Reaktionskontrolle konnte ein hoher Anteil an gehemmten PCR Reaktionen bei klinischem Probenmaterial aufgedeckt werden, deren Ursache unklar war. Die Reaktionshemmung konnte als Hauptursache für falsch negative Ergebnisse identifiziert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die modifizierte WHO Falldefinition um die PCR erweitert und ein diagnostischer Standard zur Diagnosesicherung der Kindertuberkulose entwickelt, bei dem die PCR in Kombination mit der Radiologie und dem mikroskopischen Erregernachweis zum Einsatz kam. Mittels des entwickelten Standards konnte am untersuchten Studienkollektiv bei 39 Kindern die Diagnose einer Tuberkulose gesichert werden, was einem Zugewinn gegenüber der modifizierten WHO Definition von 33% entspricht. Zum (kosten)effizienten Einsatz der PCR kann der entwickelte diagnostische Standard in ein Modell zur Diagnosesicherung integriert werden, bei dem das Probenmaterial eines selektiven Patientenkollektivs der PCR Analyse unterzogen wird.

Beim Vergleich mit herkömmlichen Nachweismethoden konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die PCR als schnelle und empfindliche Methode in Bezug auf Sensitivität und Spezifität der Kultur gleichwertig ist, bzw. die Mikroskopie übertrifft.

Anhand des entwickelten Standards konnte die Diagnosesicherung am untersuchten Studienkollektiv um 33% gesteigert werden. Der unter Einbeziehung der PCR entwickelte Diagnosestandard ist untersucherunabhängig reproduzierbar. Er kann bei der Evaluation neuer diagnostischer Methoden oder klinischer Parameter zur Anwendung kommen.