

Granulozyten-Funktionen

Material	Lithium Heparinblut	2 ml
Präanalytik	Transport	innerhalb max. 4 h bei Raumtemperatur, über Nacht verschickte Proben werden nur in Ausnahmefällen und unter Vorbehalt analysiert! Ankunft der Probe im Labor spätestens um 11:00.
Besonderheiten	gesunde Kontrolle erforderlich	
Methode	Durchflusszytometrie	
Analysendauer	1 Tag	
Durchführung	täglich	
Akkreditiert	ja	
Kosten	ca. 330€ (GOÄ 3693000 6x, 3696000 3x, 3967000 6x, Zeitaufwand ca. 3h)	

Indikation	• klinischer Verdacht auf eine granulozytäre Funktionsstörung (chronische oder rezidivierende bakterielle Infektionen, invasive Pilzinfektionen, Granulome unklarer Genese, verzögerte Wundheilung u.a.) / septische Granulomatose (CGD) • Kontrolle der Funktion (Chimärismus) nach erfolgter Stammzelltransplantation bei CGD.
-------------------	--

untersuchte Populationen	• BURSTTEST: prozentualer Anteil oxidierender, Sauerstoffradikal bildender (DHR123+) Granulozyten • Phagozytasetest: prozentualer Anteil phagozytierender Granulozyten
---------------------------------	--

Referenzbereiche	Test	Stimulus	% DHR 123+ Granulo
	Oxidativer Burst	PMA	≥ 95%
		E. coli	≥ 95%
		MSFI PMA	> 95 100
		MSFI E. coli	> 50 40
	Phagozytose	E. coli (37°C)	≥ 95%

Zusätzliche Informationen	Eine verminderte oder fehlende Burstaktivität findet sich bei der septischen Granulomatose („chronic granulomatous disease“, CGD). Die Ursache dieser Erkrankung liegt in Mutationen der Gene, die für Untereinheiten der NADPH Oxidase kodieren. Das am Häufigsten Betroffene ist das gp91-phox-Gen (CYBB,
----------------------------------	---

NOX₂), welches auf dem X-Chromosom lokalisiert ist, so dass bei >60% Jungen von einer Septischen Granulomatose betroffen sind. Weitere Bestandteile der NADPH Oxidase Komplexes sind autosomal codiert und folgen somit einem autosomal rezessiven Erbgang, auch Mädchen können somit betroffen sein (z.B. gp22-phox, gp47-phox). Die Erkrankung manifestiert sich im frühen Kindesalter und geht mit rezidivierenden bakteriellen und Pilzinfektionen einher. Auch ein Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase (G6PD) Mangel, sowie eine Myeloperoxidase (MPO)-Defizienz kann mit einer verminderten Burstaktivität einhergehen.

Die Burstaktivität von Granulozyten kann außerdem vermindert sein bei AIDS-Patienten, Patienten mit schweren Infektionen/ Sepsis, nach Medikation mit N-Acetylcystein, Sulfasalazin (und Metabolite, z.B. Mesalazin, Standard bei chron. entzündl. Darmerkrankungen), Paracetamol (Acetaminophen) sowie bei Antibiose (z.B. mit Amoxicillin, Amphotericin B, Clindamycin, Doxycyclin, Erythromycin, Fusidinsäure, Isoniazid, Rifampicin, Tetrazyklin, Trimethoprim / Sulfamethoxazol), nach Stammzelltransplantation und bei älteren Personen.

Eine veränderte Phagozytoseleistung kann bei einer Vielzahl von Erkrankungen auftreten. Die Defekte können mit Funktionsstörungen der neutrophilen Granulozyten zusammenhängen oder auf einer Beeinträchtigung der Opsonisierung. Angeborene Funktionsdefekte sind Aktin-Dysfunktion (Rho-GTPasen Mutationen) und Komplement-Komponentendefekte. Sie führen zu einer erhöhten Anfälligkeit für bakterielle und Pilzinfektionen. Eine erniedrigte Phagozytoseleistung kann auch sekundär (z.B. in Folge von Sepsis, Diabetes, AIDS, Verbrennungen und nach Glukokortikoidtherapie) bedingt sein.

Der Bursttest ermöglicht die quantitative Bestimmung des oxidativen Bursts von Granulozyten. Als oxidativen Burst bezeichnet man die Fähigkeit, Sauerstoffradikale zu bilden, welche dem Abtöten von Erregern dienen. Die Granulozyten werden mit unmarkierten opsonisierten Bakterien (E.coli), und Phorbol-12-myristat-13-acetat (PMA) stimuliert. Durch die Stimulation werden Sauerstoff-Radikale gebildet und der zugegebene Farbstoff Dihydrorhodamin (DHR) oxidiert, wodurch dieser sein typisches Fluoreszenz- Emissionsspektrum erhält und durchflusszytometrisch nachgewiesen werden kann.

Im Phagozytose-Assay wird der prozentuale Anteil phagozytierender Granulozyten durchflusszytometrisch bestimmt. Hierzu werden die Granulozyten mit fluoreszenzmarkierten E. coli Bakterien inkubiert.