

Monatsschr Kinderheilkd 2020 · 168:314–322
<https://doi.org/10.1007/s00112-020-00853-8>
Online publiziert: 14. Februar 2020
© Der/die Autor(en) 2020

Redaktion

A. Hauer, Graz
R. Kerbl, Leoben



Almuthe Christine Hauer

Klinische Abteilung für Allgemeine Pädiatrie, Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde, GPGE-zertifiziertes Weiterbildungszentrum für Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung, Medizinische Universität Graz, Graz, Österreich

Labordiagnostik bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Die endoskopisch-histologische Evaluation ist zur Diagnose einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung (CED) unabdingbar, aber für Kinder und Jugendliche besonders belastend. Daher kommt der Entwicklung weniger invasiver, seien es serologische, fäkale oder funktionelle, Biomarker, die zu Diagnostik und weiterem Monitoring der Erkrankung verwendet werden können, zunehmende Bedeutung zu. Dies gilt umso mehr, als das erklärte Therapieziel des „mucosal healing“, also der histologischen Remission, derzeit mit letzter Konsequenz nur invasiv nachgewiesen werden kann.

Routinediagnostik (konventionelle serologische und fäkale Laborparameter)

Anforderungen an den idealen Labormarker

Ein für das Management einer CED idealer Labormarker sollte vielen Ansprüchen genügen. In der initialen Diagnostik sollte ein Marker zwischen CED, anderen gastrointestinalen Erkrankungen, aber auch den CED-Subentitäten unterscheiden helfen, also möglichst spezifisch sein. Zudem sollte er zur Erfassung der Schwere der Erkrankung *per se*, der Krankheitsaktivität und zur Prognose eines Schubs herangezogen werden können, ebenso wie zum Monitoring von Krankheitsverlauf und Therapieansprechen. Des Weiteren sollte der zugrunde liegende Labortest minimalinvasiv, ein-

fach anzuwenden und validiert sein sowie und ein rasches Ergebnis bei möglichst geringen Kosten erbringen [1].

Inwiefern konventionelle Basistests ebenso wie neue, im klinischen Alltag noch kaum eingesetzte Marker dieser Erwartung gerecht werden könnten, wird im Folgenden bezüglich der Wertigkeit bei initialer Diagnostik, CED-Differenzierung und Verlaufskontrolle zusammengefasst. Die genetische Diagnostik, u. a. zur Charakterisierung der „very early onset inflammatory bowel diseases“ (VEOIBD; [2]) ist ebenso wenig Gegenstand dieser Arbeit wie Methoden des Drugmonitoring, die J. Däbritz im vorliegenden Heft erläutert.

Die Diagnosekriterien für pädiatrische CED wurden 2014 in revidierter Form von der „Paediatric IBD Porto Group“ der European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN, [3]) publiziert. Diese führen in einem speziellen Algorithmus zahlreiche Laborparameter zur initialen Diagnostik auf. Hierzu zählen serologische Inflammationsmarker, die in unspezifische (gesamtes Blutbild, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit [BSG], C-reaktives Protein [CRP], Gesamteiweiß, Albumin und Eisenstoffwechselfparameter) und spezifischere („anti-*saccharomyces cerevisiae* antibodies“ [ASCA] und perinukleäre „antineutrophil cytoplasmic antibodies“ [pANCA], atypische ANCA [X-ANCA] etc.) unterteilt werden können. Ebenso sind der fäkale Inflammationsmarker Calprotectin und mikrobiologische

Analysen des Stuhls Bestandteile des Algorithmus.

Serologische Marker

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit

Die Bestimmung des BSG-Einstundenwerts ist bei Morbus Crohn (MC) im Kindes- und Jungendalter zur Erfassung der Krankheitsaktivität wichtig. Diese ist nicht nur Teil des Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI), einem seit 1991 weltweit angewandten Index zum Monitoring der Erkrankung, sondern auch des erst kürzlich publizierten „weighted PCDAI“ [4]. Im PCDAI entspricht ein BSG-Einstundenwert <20 mm/h 0 Punkten, ein Wert von >50 mm/h aber 15 Punkten und wirkt sich damit wesentlich auf den Aktivitätsindex insgesamt aus.

C-reaktives Protein

Der sich rasch ändernde Wert des „Akute-Phase-Proteins“ CRP korreliert recht gut mit der intestinalen Inflammation (CRP ~10–40 mg/l bei milder Inflammation vs. ~50–200 mg/l bei schwerer aktiver Erkrankung). Individuelle Unterschiede des CRP-Ausgangswertes sind aufgrund von CRP-Genpolymorphismen möglich. Dessen ungeachtet ist das je nach CED-Subentität unterschiedliche CRP-„Verhalten“ erwähnenswert – mit wesentlich stärkerer CRP-Reaktion bei MC im Vergleich zur Colitis ulcerosa (CU). So erklärt sich u. a., weshalb der „dynamischere“, bei einem Schub rascher ansteigende und durch

Hier steht eine Anzeige.



Tab. 1 Korrelation pathologisch erhöhter BSG- bzw. CRP-Werte mit klinischen, endoskopischen, histologischen und radiologischen Befunden. (Modifiziert nach Alper et al. [5])

Morbus Crohn		Inaktiv (Anteil, %)	Aktiv (Anteil, %)	p
Abnormer BSG-Wert	Klinisch	25	54	0,042*
	Endoskopisch	36	82	0,005*
	Histologisch	35	91	<0,001*
	Radiologisch	83	64	0,23
Abnormer CRP-Wert	Klinisch	29	64	0,014*
	Endoskopisch	50	80	0,066
	Histologisch	56	72	0,33
	Radiologisch	88	75	0,62

BSG Blutkörperchengeschwindigkeit, CRP C-reaktives Protein

* $p < 0,05$ **Tab. 2** Diagnostischer Nutzen serologischer und fäkaler Marker als Einzeltest, zusätzlich zu klinischen Symptomen. (Modifiziert nach Holtman [9])

Labortest	Anzahl (n) der Studien	Zusammengefasst Δ AUC (95 %-KI)
C-reaktives Protein	5	0,08 (0,04–0,11)
Blutkörperchengeschwindigkeit	5	0,16 (0,11–0,21)
Thrombozyten	4	0,13 (0,08–0,19)
Hämoglobin	4	0,13 (0,08–0,19)
Albumin	3	0,13 (0,05–0,02)
Fäkales Calprotectin	5	0,26 (0,21–0,31)

AUC „area under the curve“, KI Konfidenzintervall

eine Anämie weniger beeinflusste CRP-Wert bei CED-Patienten für die Einschätzung der Krankheitsaktivität als nützlicher gilt als die BSG [1]. Dies war auch kürzlich Gegenstand einer retrospektiven Einzelkohortenstudie mit 135 an CED erkrankten Kindern: Beide Laborparameter wurden mit klinisch, endoskopisch-histologisch und radiologisch nachgewiesener Krankheitsaktivität korreliert, sowohl zu Beginn als auch während des 5-jährigen Follow-up (Tab. 1). Bei Diagnosestellung eines MC waren BSG- und CRP-Werte jeweils signifikant höher als bei CU (BSG: 72 vs. 48 %, $p = 0,022$; CRP: 85 vs. 46 %, $p = 0,001$). In den Follow-up-Untersuchungen der MC-Patienten fand sich eine signifikante Korrelation der BSG-Werte mit der klinischen, endoskopischen und histologischen Aktivität, nicht aber mit den radiographischen Befunden. Die CRP-Werte korrelierten signifikant mit der klinischen Aktivität. Für die Verlaufskontrolle bei CU erwiesen sich aber beide Parameter als wenig nützlich [5].

Ob es eine „Hierarchie“ in der Wertigkeit von u. a. BSG und CRP hinsichtlich ihrer Aussagekraft beim initialen „work-up“ noch vor der Endoskopie gibt, wurde prospektiv bei 256 pädiatrischen CED-Patienten (MC: 151; CU: 95; CED-unklassifiziert [CED-U]: 10) untersucht: Es hatten 56,4 % und 53,4 % der Patienten zu hohe BSG- bzw. CRP-Werte. Auch in dieser Studie waren diese Werte bei MC signifikant höher als bei CU-Patienten, bei denen wiederum signifikant häufiger normale BSG- und CRP-Befunde erhoben wurden (CU 34 %; MC 15,8 %; $p = 0,0035$). Insgesamt waren die serologischen Inflammationsmarker bei 15 % der diagnostizierten CED-Patienten unauffällig [6].

„Antineutrophil cytoplasmic antibodies“/„anti-saccharomyces cerevisiae antibodies“

Der positive Ausfall der ANCA- bzw. ASCA-Reaktion ist ein CED-Charakteristikum, dessen Wertigkeit für die Differenzierung der 3 CED-Subentitäten (MC,

CU, CED-U) bisher am umfangreichsten von Birimberg-Schwartz et al. [7] untersucht wurde: In einer retrospektiven multizentrischen Longitudinalstudie mit 406 pädiatrischen Patientinnen und Patienten aus 23 Zentren ging es v. a. um die Abgrenzung der CED-U von MC und CU. Hierzu wurden übereinstimmend große Kohorten analysiert (29 % mit MC-Colitis, 35 % mit CU, 36 % mit CED-U).

» Der „dynamischere“ CRP-Wert ist zur Einschätzung der CED-Krankheitsaktivität nützlicher als die BSG

Bei CED-U wurde die Konstellation pANCA-/ASCA- am häufigsten gefunden, während das Seroprofil pANCA-/ASCA+ eine gute Differenzierung von MC-Colitis vs. CED-U erlaubte (Spezifität 83 %; positiver prädiktiver Wert 96 %). Im Gegensatz dazu war das Seroprofil pANCA+/ASCA- für die Differenzierung der CED-Subentitäten nicht so aussagekräftig, korrelierte aber bei Diagnose einer CU signifikant mit der Schwere der Erkrankung ($p = 0,033$), ebenso wie das Profil ASCA+/ASCA+ mit besonders ausgeprägter Krankheitsaktivität bei MC-Colitis.

Zusammenfassend erscheint derzeit der Nutzen dieser Seroprofile für die Vorhersage des weiteren Krankheitsverlaufs bei CED mit Prädilektion im Colon noch nicht überzeugend und sollte nicht als einziges Diagnostikum zur Differenzierung von CED-U vs. MC-Colitis und CU herangezogen werden.

Fäkales Calprotectin

Calprotectin, ein Protein der Multigenfamilie S-100, dient dem Nachweis neutrophiler Granulozyten in entzündetem intestinale Gewebe, und zwar mithilfe einer Stuhlprobe. Der Test auf fäkales Calprotectin (FC) ist nichtinvasiv und bezüglich einer gastrointestinalen Inflammation sehr sensitiv, aber nicht so spezifisch (0,98; 95 %-KI 0,95–0,99 bzw. 0,68; 95 %-KI 0,5–0,86). Große Vorteile stellen die Stabilität bei Raumtemperatur über mehrere Tage, die Resistenz gegen-

über der Degradierung und die geringen Nachweiskosten dar [8].

Das FC dient seit Langem der Indikationsstellung für Endoskopien des Gastrointestinaltrakts bei CED-Verdacht [3]. In einer Metaanalyse wurde untersucht, ob die Hinzufügung der FC-Bestimmung als Einzeltest – auch im Vergleich zu serologischen Markern – in einem symptomorientierten Vorhersagemodell hilfreich zur Differenzierung der CED-Subentitäten und zur Einschätzung des Risikos schwerer Erkrankung sein könnte (■ Tab. 2). In diese Analyse wurden nur Studien inkludiert, die genügend individuelle Daten zu Kindern mit mäßigem bis schwerem CED-Risiko boten, um die adäquate Validierung des FC anhand endoskopisch-histologischer Diagnostik bzw. klinischem Follow-up zu erlauben. Obwohl auch serologische Parameter (CRP, BSG, Thrombozyten, Hämoglobin, Albumin) für sich genommen und in Ergänzung zu den klinischen Symptomen die Unterscheidung, ob ein Patient eine CED hatte oder nicht, signifikant verbesserten, erwies sich FC als bester Marker: Durch seine zusätzliche Analyse ließ sich die „Area under the curve“ (AUC) der Symptome um 0,26 verbessern und der Evaluierung der klinischen Symptome der relativ größte diagnostische Wert hinzufügen [9]. Allein durch zusätzliche FC-Bestimmung stieg die Identifizierung jener Patienten, die keine CED hatten, von 33 auf 91 %. Der Anteil jener, die fälschlich als Niedrigrisikopatienten für eine CED eingestuft worden waren, nahm von 16 auf 9 % ab. Vor allem die Gruppe, die zunächst als mit mäßigem CED-Risiko klassifiziert worden war, verringerte sich von 55 auf 6 %.

» Zusätzliche FC-Bestimmung erwies sich zur Identifizierung von Patienten, die keine CED haben, als hilfreich

Ob FC auch dem seriellen Monitoring der CED-Aktivität und des Therapieerfolgs dient, wurde anhand von 5, teils prospektiven, pädiatrischen Studien mit 15 bis 76 Patienten mit MC bzw. CU und einer Biologikatherapie untersucht [10].

Monatsschr Kinderheilkd 2020 · 168:314–322 <https://doi.org/10.1007/s00112-020-00853-8>
© Der/die Autor(en) 2020

A. C. Hauer

Labordiagnostik bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Zusammenfassung

Die Labordiagnostik hat sowohl im empfohlenen initialen „work up“ bei Verdacht auf eine chronisch entzündliche Darmerkrankung (CED) wie auch für das Monitoring des Krankheitsverlaufs und des Therapieansprechens einen klar umrissenen Stellenwert: Mithilfe der „Basislaborparameter“ wie z. B. Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) können krankheitsspezifische Aktivitätsindizes erstellt werden, und neue serologische Marker (u. a. ANCA [„antineutrophil cytoplasmic antibodies“], ASCA [„anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies“]) dienen der ergänzenden Differenzierung der CED-Entitäten. Derzeit dürfte das Stuhl-Calprotectin – als am weitreichendsten untersuchter fäkaler Inflammationsmarker – v. a. aufgrund der hohen Sensitivität initial und zur Einschätzung der Krankheitsaktivität der relativ beste Surrogatmarker sein. Nach wie vor ist aber die endoskopisch-histopathologische Evaluierung nicht nur

für die Diagnose unabdingbar, sondern auch bezüglich des erklärten Therapieziels des „mucosal healing“, also im Rahmen der präzisen Verlaufsdocumentation. Der Entwicklung weniger invasiver „Biomarker“, die möglichst gut mit dem Schleimhautbefund korrelieren, kommt besondere Bedeutung zu, um die derzeit oft noch notwendige invasive Reevaluierung verringern zu helfen. Wie die Wertigkeit sowohl in der Routine etablierter, aber auch neuer, teils experimentell angewandter serologischer, fäkaler und funktioneller Laborparameter bzw. -tests einzuschätzen ist, und welche diagnostischen Methoden in Erprobung sind, wird im vorliegenden Beitrag erläutert.

Schlüsselwörter

Biomarker · Serologie · Calprotectin · Volatile organische Komponenten · Noninvasive Untersuchungen

Laboratory diagnostics in chronic inflammatory bowel diseases

Abstract

Laboratory diagnostics are part of the recommended initial diagnostic work-up for suspected chronic inflammatory bowel disease (IBD) as well as for monitoring disease activity and treatment response. Basic laboratory parameters, such as the erythrocyte sedimentation rate (ESR), are used to determine disease-specific activity indices and more novel serological markers, e.g. antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) are used to differentiate between IBD entities. Currently, fecal calprotectin, the most broadly investigated fecal inflammatory marker to date, seems to be the relatively best surrogate marker, both initially and for assessment of disease activity and this can be largely attributed to its high sensitivity; however, endoscopic and histopathological evaluations are still mandatory in establishing

the diagnosis and also for checking on current treatment paradigms, including treatment to target and with respect to the ultimate treatment goal of mucosal healing. Because regular re-endoscopies cause a high burden on pediatric patients, the development of less invasive biomarkers correlating as closely as possible with mucosal features is particularly important. How long-standing routinely used parameters but also more novel and even experimentally applied serological, fecal and functional laboratory markers and diagnostic methods can be rated within this context and which diagnostic methods are undergoing trials are summarized in this article.

Keywords

Biomarkers · Serology · Calprotectin · Volatile organic compounds · Noninvasive testing

Als wichtigstes Ergebnis zeigte sich, dass die FC-Werte nach der Therapie signifikant niedriger waren als vorher, womit das Ansprechen auf die Therapie eindeutig unterstrichen werden konnte. Ob eine FC-Einzelmessung bei klinisch inaktiver CED einen erneuten „relaps“ vermuten

lassen könnte, war Gegenstand der Analyse 7 weiterer Studien, mit jeweils 40 bis 100 Patienten: Der Vergleich der FC-Medianwerte von Patienten in Remission mit jenen im Schub, ergab übereinstimmend hohe Sensitivitäten für die Vorhersage eines Rückfalls (~90 %), mit Spezi-

Tab. 3 Neue serologische Marker für die Differenzierung von pädiatrischem MC vs. CU. (Modifiziert nach Kovács et al. [13])

Marker	Sensitivität (%)		PPV (%)
	CD	UC	CD vs. UC
Anti-Omp	11–34	5–25	57,9–69
Anti-CBir	52–56	ND	ND
Anti-I2	44,4–50	41,7–42	51,6–54,3
gASCA	60,7–62,7	11,1–14,6	87,1–92,5
ACCA	8,7–22	3–18,5	72,2–83,3
ALCA	19,7–30,5	7,6–14,8	81,8–81,6
AMCA	12,2–16,9	7,6–14,8	71,4–86,3
Anti-L	18–22	3,3–14,8	76,5–90,3
Anti-C	10,2–22	2,3–14,8	76,5–83,3
PAB	34–38,5	20,4–20,6	62,5–65,1
Anti-GP2	30,2	8,8	77,4
GAB	12,2	1,9	86,5

ACCA „anti-chitobioside carbohydrate antibodies“, ALCA „anti-laminaribioside carbohydrate antibodies“, AMCA „anti-mannobioside carbohydrate antibodies“, Anti-C „anti-chitin carbohydrate antibodies“, Anti-CBir1 Antikörper gegen das bakterielle Flagellin CBir1, Anti-GP2 Antikörper gegen Glykoprotein 2, Anti-I2 Antikörper gegen die „pseudomonas-associated sequence“, Anti-L „anti-laminarin carbohydrate antibodies“, Anti-OmpC Antikörper gegen „outer membrane porin C of *Escherichia coli*“, ASCA Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae*, CD „Crohn's disease“ (M. Crohn), GAB Antikörper gegen „intestinal goblet cells“ (Becherzellen des Darms), ND „no data available“ (keine Daten erhältlich), PAB „pancreatic antibodies“, PPV „positive predictive value“ (positiver Vorhersagewert), UC „ulcerative colitis“ (Colitis ulcerosa)

Tab. 4 Neue serologische Marker zur Differenzierung von MC bei Kindern und Jugendlichen vs. gesunde Kontrollen bzw. CU bei Kindern und Jugendlichen vs. gesunde Kontrollen. (Modifiziert nach Kovács et al. [13])

Marker		Sensitivität (%)	Spezifität (%)	PPV (%)
MC vs. gesunde Kontrollen	ASCA	35,5–72,8	95,2–96,5	91–93,8
	PAB	34,0–43,8	100	100
	Anti-GP2	30,2	96	88,3
	GAB	1,9	98,1	50,0
	PAB und/oder ASCA	79,6	95,2	94,3
	PAB und/oder ASCA/ pANCA	53,4	95,2	91,8
	ASCA+/pANCA–	51,5	95,2	91,5
CU vs. gesunde Kontrollen	GAB	12,2	98,1	86,5
	PAB	20,4–23,5	100	100
	Anti-GP2	8,8	96	68,8
	ASCA	6,9–26,5	95,2–96,5	66,3–84,7
	GAB+/pANCA+	12,2	98,1	86,5
	PAB+/pANCA+	18,4	100	100
	rPAB+/pANCA+	22,4	100	100
GAB+/PAB+/pANCA+	4,1	100	100	

ASCA „anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies“, Anti-GP2 Antikörper gegen Glykoprotein 2, CU Colitis ulcerosa, GAB Antikörper gegen Becherzellen des Darms, MC M. Crohn, PAB „pancreatic antibodies“, pANCA „perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies“, PPV positiver Vorhersagewert, rPAB „recombinant pancreatic antigen“

fitäten um 83 % [10]. Ergänzend stellte eine pädiatrische Studie mit fast 80 Kindern fest, dass Therapieintensivierungen – lediglich aufgrund steigender FC-Werte – generell eine klinische Besserung bewirkten und die Messung nur dieses einen Parameters daher wesentlich war [11].

Wie sich ein anderer fäkaler Biomarker, Lactoferrin, im Vergleich zu FC beurteilen lässt, ist einem systematischen Review von 19 Studien mit fast 2500 Patienten mit aktiver CED zu entnehmen: Der Vergleich von CRP, FC, Stuhl-Lactoferrin und dem endoskopischen Befund als „Goldstandard“ ergab für das CRP eine Sensitivität von 0,49 bezüglich der endoskopisch aktiven Erkrankung (Spezifität 0,92). Im Gegensatz dazu erwies sich die diagnostische Genauigkeit beider Stuhlmarker als wesentlich besser – so betrug bei FC die Sensitivität 0,88 (Spezifität 0,73), und bezüglich des Stuhl-Lactoferrin zeigten sich ähnlich gute Ergebnisse (Sensitivität 0,82; Spezifität 0,79; [12]).

Neue serologische Marker

Ob neue serologische Marker (12 untersuchte Marker, u. a. Antikörper [AK] gegen bakterielles Flagellin CBir, Anti-Glykan-AK bzw. pankreatische Auto-AK) bei pädiatrischen Patienten eine verbesserte Differenzierung zwischen MC und CU bzw. CED und gesunden Kontrollen ermöglichen, wurde von Kovács et al. systematisch analysiert [13]: Dabei erwiesen sich gASCA (Mannan-Epitop von *Saccharomyces cerevisiae*) für die Diagnose eines MC und Anti-I2 für die Diagnose einer CU als jeweils am sensitivsten (Sensitivität 60,7–62,7 % bzw. 41,7–42 %). Auch der positive Vorhersagewert des gASCA für MC vs. CU war für besonders hoch (87,1–92,5 %, ■ Tab. 3). Bezüglich der Unterscheidung von MC und gesunden Kontrollen ergaben sich hohe Sensitivitäts- und Spezifitätswerte (87,4 % bzw. 89,3 %), bei Kombinationen der Marker „pancreatic antibodies“ (PAB) und/oder ASCA und/oder pANCA für die Differenzierung zwischen CU und gesunden Kontrollen dürfte derzeit pANCA am geeignetsten sein (Sensitivität 77,5 %; Spezifität 94,2 %), aber auch Kombinationen

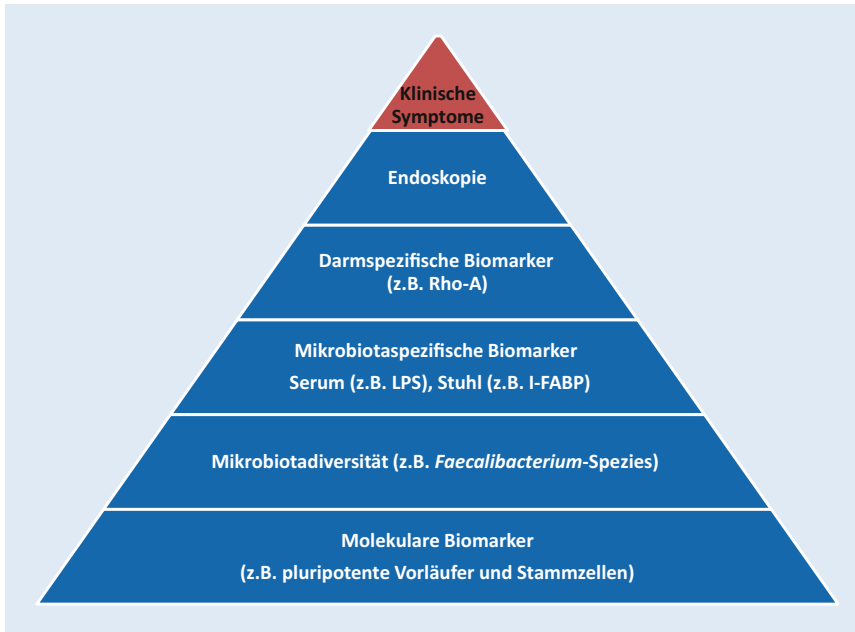


Abb. 1 ▲ Neue „-omics“: nichtinvasive Biomarker zur Charakterisierung des „mucosal healing“. I-FABP „intestinal fatty-acid binding protein“, LPS Lipopolysaccharide. (Modifiziert nach Marlicz et al. [18])

von pANCA und u. a. PAB (Sensitivität 79,6%; Spezifität 94,2%; **Tab. 4**).

Ob mithilfe des zusätzlichen Einsatzes dieser Marker der weitere Erkrankungsverlauf stratifiziert werden kann, konnte bisher insofern gezeigt werden, als die Positivität des Nachweises von Anti-OmpC, Anti-CBir1, Anti-I2 und ASCA bei Kindern mit strikturierendem oder perforierendem MC-Phänotyp und damit MC-spezifischer Operation assoziiert sind. Dagegen korrelierten hohe Anti-CBir1- bzw. pANCA-Spiegel bei an einer CU erkrankten Kindern und Jugendlichen mit einer Pouchitisneigung nach durchgeführter ileoanaler Anastomose [14].

Fokussiert auf die Anti-Glykan-Kohlenhydrat-AK („anti-mannobioside carbohydrate antibodies“ [AMCA], „anti-chitobioside carbohydrate antibodies“ [ACCA], „anti-laminaribioside carbohydrate antibodies“ [ALCA], Anti-Laminarin-, Anti-Chitin-AK) als Seromarker und ihren Stellenwert bei initialer Diagnostik und Follow-up stehen Daten von 195 CED-Patienten (MC: 107; CU: 88) im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen zur Verfügung: Die Multivariatanalyse ergab, dass eine Positivität von zumindest einem An-

ti-Glykan-Kohlenhydrat-AK signifikant mit MC (<0,0001) und CU (<0,0007) im Vergleich zu Kontrollpersonen korrelierte. Zur Differenzierung von MC und CU war die Kombination positiver ASCA- und ANCA-Nachweise am effizientesten, was sich durch die zusätzliche Analyse der Anti-Laminarin-AK noch verbessern ließ. In der Einschätzung des Risikos eines schweren Krankheitsverlaufs half v. a. die AMCA-Bestimmung [15].

Ergänzend dazu wurde die Frage, ob bei Kindern und Jugendlichen mit MC ein strikturierender oder penetrierender Krankheitsverlauf anhand des Seroprofils vermutet werden könnte, prospektiv von Kugathan et al. analysiert [16]: In einer multizentrischen Studie mit 913 Patienten erwiesen sich die Positivität von ASCA-IgA- bzw. CBir1-Antikörpern als hochsignifikant, v. a. für einen strikturierenden, aber auch einen penetrierenden Phänotyp ($p < 0,00816$ bzw. $p < 0,007$).

Ob die serologische Reaktivität auch bei CU Aussagen zum Phänotyp erlaubt, untersuchten kürzlich Spencer et al. und fanden, dass ein hoher pANCA-Titer mit einer extensiven Erkrankung assoziiert ist [17].

Neue Technologien

Charakterisierung der Mikrobiotadiversität

Zur Objektivierung des Therapieziels der histologischen Remission („mucosal healing“, „deep remission“) ist derzeit die regelmäßige endoskopisch-histologische Reevaluation nötig. Diese könnte idealerweise, zumindest teils, durch eine nichtinvasive Diagnostik ersetzt werden. Bisher haben aber jegliche molekulare (z. B. pluripotente Vorläufer/pluripotente Stammzellen; [18]), epigenetische, mikrobielle oder metabolische Charakterisierungen einer Schleimhautheilung noch keinen Eingang in die Routinediagnostik gefunden (**Abb. 1**).

Da bei CED das „Ökosystem“ verändert ist – so ist „Niedrigrisiko“-CED eher mit der Dominanz von z. B. Bifidobakterien assoziiert, während bei aktiver CED wesentlich mehr *Enterobacteriaceae* oder *Neisseriaceae* gefunden werden – könnten mikrobielle Biomarker zur genauen Beschreibung des Krankheitsverlaufs genutzt werden (**Tab. 5**): Solche mikrobiotaassoziierten Biomarker (z. B. Lipopolysaccharide, LPS) lassen sich sogar einschließlich der Charakterisierung ihrer Diversität (z. B. *Faecalibacterium*-Spezies) aus dem Serum bestimmen. Die Analyse der Mikrobiota des Speichels kann ebenfalls aufschlussreich sein, denn ihre Zusammensetzung ändert sich ebenso je nach CED-Verlauf. Und auch die Untersuchung der Mikrobiota aus der Rektummukosa – hier ist die Biopsieentnahme relativ wenig invasiv – ist aussagekräftiger als jene des fäkalen Kompartments.

» Mithilfe mikrobieller Marker kann aktuell v. a. zwischen MC und „Nicht-MC“ unterschieden werden

Kombinierte man die Ergebnisse solcher Untersuchungen, ließe sich evtl. ein „Dysbiosesindex“ zur klinischen Nutzung entwickeln. Da sich aber die Mikrobiotakompositionen interindividuell stark unterscheiden und sich selbst die

Tab. 5 Mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen assoziierte bakterielle Mikrobiota. (Modifiziert nach Dubinsky [19])

Populations-subset	Assoziierte bakterielle Mikrobiota
Geringes Risiko	<i>Bacteroidales</i> , <i>Ruminococcaceae</i> , <i>Clostridiales</i> , <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Bifidobacteriaceae</i>
Erhöhtes Risiko	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcaceae</i> , <i>Lachnospiraceae</i> (<i>Blautia</i> , <i>Dorea</i>), <i>Prevotella</i>
Aktive Erkrankung	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Gemellaceae</i> , <i>Neisseriaceae</i> , <i>Pasteurellaceae</i> , <i>Fusobacteriaceae</i> , <i>Veillonellaceae</i>

Komposition beim einzelnen Patienten über die Zeit ändert, ist derzeit der Vorhersagewert evtl. Indikatororganismen im Hinblick auf Diagnose, Phänotyp der Erkrankung oder Therapieansprechen noch zu gering, als dass solch ein mikrobieller Marker routinemäßig eingesetzt werden könnte [19].

In diesem Kontext ist eine multizentrische Studie mit mehr als 2000 MC- und CU-Patienten im Vergleich zu Kontrollprobanden besonders interessant, da sie u. a. die longitudinale Auswertung eines Datensatzes von 115 Mio. analysierten Sequenzen beinhaltet [20]: Dabei zeigten sich Cluster-Formationen die Mikrobiota, die – je nachdem, ob es sich um MC- oder CU-Patienten oder Kontrollprobanden handelte – signifikant divergierten. Vor allem die Mikrobiota der MC-Patienten waren im Vergleich zu CU-Patienten und Kontrollprobanden bezüglich der Qualitätsmerkmale „Reichtum“ und „Ausgeglichenheit“ signifikant beeinträchtigt. Auch taxonomische Differenzen der Mikrobiota von MC-Patienten und Kontrollen fielen auf, u. a. fanden sich wesentlich mehr Anaerobier bei MC-Patienten. Diese Dysbiose war bei den MC-Patienten der spanischen Kohorte besonders ausgeprägt, und es kristallisierten sich 8 mikrobielle Gruppen heraus, die evtl. eine für MC spezifische mikrobielle Signatur darstellen könnten: Aktuell wies diese Signatur im Vergleich zur Signatur der Gesamtkohorte eine Sensitivität von 80 % und Spezifität von 94 % auf (MC vs. Kontrollprobanden) sowie Sensitivitäten von 89 % für MC. vs. Reizdarmsyndrom bzw. von 91 % vs. CU. Damit bestätigte sich, dass MC und CU auch auf dem Mikrobiota-Level unterschiedliche CED-Subtypen darstellen und außerdem mithilfe mikrobieller Marker v. a. zwischen

MC und „Nicht-MC“ unterscheiden kann. Spannend ist, dass Mikrobiotaanalyse dieser Qualität bereits für 150 €/Stuhlprobe erhältlich sind, mit einer Untersuchungsdauer von einem Tag.

Fäkale Aminosäureprofile

Ob die Analyse von Aminosäureprofilen (Separation der Aminosäuren mithilfe der Ionenaustauschchromatographie und Detektion via UV-Absorption) aus dem Stuhl zur Entwicklung diagnostisch nutzbarer noninvasiver Biomarker beitragen könnte, war Gegenstand einer pädiatrischen Studie (■ Tab. 6; [21]): In der Fall-Kontroll-Studie mit 30 CED-Patienten (15 MC, 15 CU) – noch ohne Therapie – vs. 15 bezüglich Alter, Geschlecht, Herkunftsregion und Ausbildung übereinstimmenden Kontrollprobanden wurden klinischer Status, endoskopischer Befund, CRP, FC und fäkale Aminosäureprofile erfasst. Die Aminosäureprofile der CED-Patienten unterschieden sich hinsichtlich 6 der 19 analysierten Aminosäuren (Histidin, Tryptophan, Phenylalanin, Leucin, Tyrosin und Valin) signifikant von jenen der Kontrollprobanden – mit AUC-Werten >0,75 und generell höheren Leveln bei CED. Das hohe diskriminative Potenzial betraf auch die Unterscheidung zwischen MC und CU sowie zwischen CU und Kontrollprobanden, mit signifikanten Differenzen bezüglich 5 der 19 Aminosäuren. Auch dieser Test ist relativ rasch umzusetzen und nicht teuer.

Atemtests

Erkrankungen, die mit ausgeprägtem Stress einhergehen – z. B. zystische Fibrose, Diabetes mellitus Typ 1 oder Tuberkulose – können u. a. mithilfe der

molekularen Analyse der Ausatemluft näher charakterisiert werden. Hierbei kommen massenspektrometrische Techniken wie Gaschromatographie oder auf Sensorarrays von Nanopartikeln beruhende Verfahren zur Anwendung. Inwiefern sich die so untersuchten „volatilen organischen Komponenten“ („volatile organic compounds“, VOC) von CED-Patienten im Vergleich zu an infektiöser Diarrhö Erkrankten und gesunden Probanden unterscheiden, analysierten Monasta et al. in einer Fall-Kontroll-Studie. Die Autoren versuchten, ein spezifisches VOC-Muster, das mit veränderter intestinaler Homöostase einhergeht, zu erfassen [22]. Verglichen wurden 4 Gruppen pädiatrischer Patienten mit MC-Colitis oder CU vs. Kontrollprobanden mit unspezifischen gastrointestinalen Symptomen bzw. Kontrollprobanden, die einer Operation unterzogen worden waren, aber keine gastrointestinale Erkrankung hatten. Die Analyse der alveolaren Ausatemluft erfolgte mithilfe 4 unterschiedlicher Modelle, beginnend mit 81 VOC, einschließlich dem Alter der Untersuchten als zusätzlicher unabhängiger Variabler: Die Untersuchung von 18 VOC, einschließlich des Patientenalters, ergab für die Unterscheidung von CED vs. Kontrollprobanden eine 95 %ige Sensitivität dieser Komponenten. Ähnlich hoch war die Sensitivität (94 %), wenn Patienten mit MC und CU verglichen wurden (anhand von 13 VOC). Auch für den Vergleich von CED-Patienten mit Kontrollprobanden, die gastrointestinale Symptome hatten, ergab sich – beruhend auf 15 VOC – eine Sensitivität von 94 % (Spezifitäten 65 bzw. 76 %).

Eine weitere Untersuchung zur Wertigkeit der VOC als noninvasivem Biomarker, aus Harn und Stuhl, erfolgte inzwischen bei 20 vier- bis 17-jährigen Patienten mit CED-Verdacht: Die Proben wurden während des initialen Work-up, aber noch vor den Endoskopien entnommen und die Ergebnisse von jeweils 5 neu diagnostizierten Patienten mit MC bzw. CU mit 10 bezüglich Alter und Geschlecht passenden Kindern mit normalem histologischem Befund verglichen. Die VOC-Profile sowohl aus dem Stuhl (*p*-Wert 0,038; AUC 0,73) wie auch aus

Tab. 6 Fäkale Aminosäureprofile als Biomarker (Modifiziert nach Bosch et al. [21])

Aminosäure	Gesunde Kontrollgruppe (Median [LQR-UQR]) n = 15	CED-Patienten (Median [LQR-UQR]) n = 30	CU vs. HC p-Wert	CU (Median [LQR-UQR]) n = 15	CU vs. HC p-Wert	MC (Median [LQR-UQR]) n = 15	MC vs. HC p-Wert	CU vs. MC p-Wert
Histidin	1,7 (0,7–3,9)	4,8 (3,8–13,0)*	<0,001	8,65 (3,85–16,0)†	<0,001	4,4 (2,8–5,2)†	0,002	0,089
Leucin	21,7 (15,6–30,1)	44,6 (26,9–66,8)*	<0,001	62,5 (30,1–72,3)†	<0,001	37,9 (24,4–53,7)	0,005	0,148
Phenylalanin	9,7 (7,1–15,3)	22,4 (12,3–31,4)*	<0,001	25,7 (13,1–34,4)†	<0,001	19,1 (12,0–26,2)†	0,002	0,250
Tryptophan	2,1 (1,4–3,4)	4,4 (3,1–5,7)*	<0,001	4,8 (3,5–6,1)†	<0,001	3,9 (2,8–5,6)†	0,003	0,367
Tyrosin	9,7 (7,45–14,6)	17,7 (11,3–22,5)*	0,003	19,5 (11,4–25,7)	0,006	15,3 (11,0–21,5)	0,013	0,744
Valin	21,0 (16,1–31,0)	41,0 (23,9–55,3)*	0,003	49,2 (29,2–58,7)†	0,003	35,4 (20,3–46,5)	0,019	0,187

CEC chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, CU Colitis ulcerosa, HC „healthy controls“ (gesunde Kontrollprobanden), LQR lower quartile range, UQR upper quartile range, MC M. Crohn
*CED signifikant unterschiedlich im Vergleich zu Kontrollindividuen (Mann-Whitney U test), †Analyse der Subgruppe signifikant unterschiedlich im Vergleich zu Kontrollindividuen (Mann-Whitney U test)

dem Harn (0,028, AUC 0,78) divergierten signifikant zwischen CED-Patienten und Kontrollprobanden. Die Profile wurden daher, ungeachtet der beiden Medien, aus denen sie analysiert wurden, hinsichtlich des Potenzials eines noninvasiven Biomarkers als für die pädiatrische CED-Diagnostik gleich gut eingestuft [23].

Fazit für die Praxis

- Noninvasive Labortechniken ergänzen die invasive Diagnostik chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen (CED) wesentlich und werden für das Monitoring von Verlauf und Therapieansprechen immer wichtiger, da sie zunehmend mit dem Schleimhautbefund korrelieren.
- Von den serologischen Routinemarkern erwiesen sich C-reaktives Protein (CRP) und – etwas weniger – die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) als hilfreich im Management von Morbus Crohn (MC) bei Kindern, aber als weniger aussagekräftig bei Colitis ulcerosa (CU). Zur Differenzierung der CED-Entitäten sind Marker wie „antineutrophil cytoplasmic antibodies“ (ANCA; CU) und „anti-saccharomyces cerevisiae antibodies“ (ASCA; MC) eine Ergänzung. Obwohl weniger spezifisch, ist der hohe Stellenwert des fäkalen Calprotectins (FC) für den CED-Ausschluss sowie das Monitoring von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen derzeit im klinischen Alltag unwidersprochen.
- Interessant zur noch differenzierten noninvasiven Charakterisierung von CED vs. Nicht-CED, CED-Phänotyp sowie Schwere und Verlauf der Erkrankung dürften neuere serologische Marker (u. a. IgA-Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* [ASCA-IgA]- bzw. Antikörper gegen das Flagellin CBir1 [CBir1-AK]), mikrobielle CED-spezifische Signaturen sowie volatile organische Komponenten aus Ausatemluft, Stuhl und Harn sein.

Korrespondenzadresse



Univ.-Prof. Dr. Almuthe Christine Hauer
Klinische Abteilung für Allgemeine Pädiatrie, Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde, GPGE-zertifiziertes Weiterbildungszentrum für Pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung, Medizinische Universität Graz
Auenbruggerplatz 34/2,
8010 Graz, Österreich
almuthe.hauer@medunigraz.at

Funding. Open access funding provided by Medical University of Graz.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A.C. Hauer gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von der Autorin keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Open Access Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

1. Vermeire S et al (2006) Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? Gut 55(3):426–431
2. Uhlig HH (2014) The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. Gastroenterology 147(5):990–1007
3. Levine A (2014) ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in

- children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 58(6):795–806
4. Turner D et al (2017) Which PCDAI version best reflects intestinal inflammation in pediatric Crohn disease? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 64(2):254–260
 5. Alper A et al (2017) Correlation of ESR and CRP with pediatric inflammatory bowel disease activity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 65(2):e25–e27
 6. Ashton JJ et al (2018) Analysis and hierarchical clustering of blood results before diagnosis in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. <https://doi.org/10.1093/ibd/izy369>
 7. Birimberg-Schwartz L, Turner D, Paediatric IBD Porto Group of ESPGHAN, Paediatric IBD Porto Group of ESPGHAN (2016) pANCA + ASCA in children with IBD-U, Crohn's colitis, and UC—a longitudinal report from the IBD Porto group of ESPGHAN. *Inflamm Bowel Dis* 22(8):1908–1914
 8. Kostakis ID et al (2013) Fecal calprotectin in pediatric IBD: a systematic review. *Dig Dis Sci* 58(2):309–319
 9. Holtman GA (2017) Use of laboratory markers in addition to symptoms for diagnosis of IBD in children: a meta-analysis of individual patient data. *JAMA Pediatr* 171(10):984–991
 10. Sipponen T, Kolho KL et al (2015) Fecal calprotectin in diagnosis and clinical assessment of IBD. *Scand J Gastroenterol* 50(1):74–80
 11. El-Matary W, Abej E, Deora V, Singh H, Bernstein CN (2017) Impact of fecal calprotectin measurement on decision-making in children with inflammatory bowel disease. *Front Pediatr* 25(5):7
 12. Mosli MH et al (2015) CRP, fecal calprotectin, and stool Lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: a systematic review + meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 110(6):802–819
 13. Kovács M, Veres G et al (2014) New serological markers in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 20(17):4873–4882
 14. Dubinsky MC et al (2008) Increased immune reactivity predicts aggressive complicating CD in children. *Clin Gastroenterol Hepatol* 6(10):1105–1111
 15. Paul S et al (2015) Association of anti-glycan antibodies and IBD course. *J Crohns Colitis* 9:445–451
 16. Kugathasan S et al (2017) Prediction of complicated disease course for children newly diagnosed with Crohn's disease: a multicentre inception cohort study. *Lancet* 389(10080):1710–1718
 17. Spencer EA et al (2018) Serologic reactivity reflects clinical expression of UC in children. *Inflamm Bowel Dis* 24(6):1335–1343
 18. Marlicz W et al (2018) Emerging concepts in non-invasive monitoring of Crohn's disease. *Therap Adv Gastroenterol* 11:1756284818769076. <https://doi.org/10.1177/1756284818769076>
 19. Dubinsky M (2015) Diagnostic and prognostic microbial biomarkers in IBD. *Gastroenterology* 149(5):1265–1274
 20. Pascal V et al (2017) A microbial signature for Crohn's disease. *Gut* 66(5):813–822
 21. Bosch S et al (2018) Fecal amino acid analysis can discriminate de novo treatment-naïve pediatric inflammatory bowel disease from controls. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 66(5):773–778
 22. Monasta L et al (2017) Inflammatory bowel disease and patterns of volatile organic compounds in the exhaled breath of children: a case-control study using Ion molecule reaction-mass spectrometry. *PLoS ONE* 12(8):e184118
 23. El Manouni S et al (2019) Simultaneous assessment of urinary and fecal volatile organic compound analysis in de novo pediatric IBD. *Sensors (Basel)* 19(20):E4496. <https://doi.org/10.3390/s19204496>

Hier steht eine Anzeige.