

Nukleinsäure-gestützte Nachweisverfahren (PCR/NAT)

Entnahmetechnik

Eine Aufstellung besonders geeigneter Probenmaterialien für einzelne Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren finden Sie unter „**Untersuchungsspektrum**“.

Allgemein gilt:

- Der Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäure kann prinzipiell aus jedem klinischen Probenmaterial durchgeführt werden, in dem die physikalische Anwesenheit des Erregers zu erwarten ist. Es kann wie bei der Einsendung kulturell zu untersuchender Proben vorgegangen werden. Bedingungen, die den kulturellen Nachweis erlauben, ermöglichen in der Regel auch den Nachweis der erregerspezifischen Nukleinsäure.
- Untersuchungen mittels speziesübergreifender PCR-Verfahren (Bakterien spp./Pilz spp.) sind in der Regel nur bei normalerweise sterilem Probenmaterial (wie Liquor, Gelenk-, Pleura-, Glaskörperpunktionen, Organbiopsien) sinnvoll. Bei Mischinfektionen bzw. -besiedelungen sind die technischen Möglichkeiten einer genaueren Speziesdifferenzierung methodenbedingt stark eingeschränkt.
- Heparin-Blut ist aufgrund der PCR-Inhibition generell ungeeignet (⇒ EDTA-Blut einsenden).
- In Serumproben ist die Menge an Bakterien und Pilzen extrem abgereichert (⇒ EDTA-Blut einsenden).
- Stets **natives** (d.h. **nicht** Formalin-fixiertes) Probenmaterial einsenden. Durch Formalin-Fixierung wird die Amplifizierbarkeit der erregerspezifischen Nukleinsäuren irreversibel unterbunden und eine anschließende PCR-Diagnostik durch Inhibition verhindert.
- Der direkte Erregernachweis aus Stuhlproben, Paraffinschnitten oder Formalin-fixiertem Gewebe kann aufgrund von Inhibitionseignissen zu nicht interpretierbaren Ergebnissen führen. Bei diesen Materialien sind u.U. auch deutlich schlechtere Nachweisgrenzen zu erwarten
- Bei geringen Mengen transparentem Probenmaterials (z.B. Kornea-Biopsien) die Position des Biopsats an der Außenwand des Probengefäßes kennzeichnen.
- Einige molekularbiologische Spezialuntersuchungen können nur nach vorheriger Ankündigung zeitnah durchgeführt werden.
Bitte die Art des Probenmaterials und den Probenversand telefonisch (24 Stunden) unter Tel.: 0941/944-6467 ankündigen!

Volumen/Probenzahl

Angaben zu den mindestens erforderlichen Volumina oder Mengen des klinischen Probenmaterials für die einzelnen Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren sind dem Untersuchungsspektrum zu entnehmen. Die Angaben gelten für die Gesamtmenge an Probenmaterial (incl. Mikroskopie, Serologie, Kultur)

Allgemein gilt:

- Probenmaterial in ausreichender Menge und Güte gewinnen, da bei zu geringer Materialmenge keine ausreichende Sensitivität der PCR-Untersuchungen gegeben ist.
- Mehrfachuntersuchungen erfordern i.d.R. ein größeres Probenvolumen.

Lagerung und Transport

Transport:

In bruchsickelem Transportgefäß möglichst sofort zur Untersuchung einsenden (< 2 h).

- Sterile, dicht schließende Einmalprobengefäße verwenden. Diese sind i.d.R. auch DNA-frei. Bei Bedarf können solche Probengefäße über das Eingangslabor Mikrobiologie (Tel. 0941/944-6410) angefordert werden.
- Biopsien im Probenröhrchen mit einem Tropfen steriler Kochsalzlösung gegen Austrocknung schützen.

Zwischenlagerung:

In Abhängigkeit vom Probenmaterial (siehe dort) bei Raumtemperatur oder gekühlt (4 °C) bis zum Versand zwischenlagern.

- **CAVE:**
flüssiges Probenmaterial zur Zwischenlagerung keinesfalls bei -20 °C tiefrieren, da Erreger dadurch zerplatzen können, sich anschließend nicht mehr durch Zentrifugation anreichern lassen und freigesetzte Nukleinsäuren rasch abgebaut werden.

Bemerkungen

Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit aus. Ein positives Ergebnis ist nicht beweisend für das Vorliegen einer floriden bakteriellen Infektion, da mit PCR-Verfahren auch DNA von nicht mehr vermehrungsfähigen Erregern erfasst wird.

Weitere Hinweise zu den individuellen Anforderungen und Spezifikationen einzelner molekularbiologischer Untersuchungsverfahren sind dem **Molekularbiologischen Untersuchungsspektrum** zu entnehmen.