

Speziesübergreifende PCR-Untersuchung für Pilze

Allgemeine Hinweise

Bei dieser Untersuchungsart werden mittels PCR spezielle Bereiche (sog. Speziesmarker-Gene) innerhalb des Genoms von Hefen und Schimmelpilzen amplifiziert. Bei fungalen Monoinfektionen kann dann im positiven Fall eine molekulare Speziesidentifizierung über DNA-Sequenzanalyse und Datenbankabgleich durchgeführt werden.

Indiziert ist die Untersuchung zum Nachweis nicht kultivierbarer oder nicht mehr ausreichend vermehrungsfähiger Erreger (z.B. bei antifungal vorbehandelten Patienten), zur Beschleunigung der Diagnostik bei Verdacht auf Infektionen mit langsam wachsenden oder hochpathogenen Pilzspezies und zur Erhöhung der diagnostischen Sensitivität.

Der Nukleinsäure-Nachweis wird in der Regel nicht isoliert, sondern stets ergänzend zu mikroskopischen und kulturellen Untersuchungsverfahren durchgeführt.

Für den PCR-Nachweis von Bakterien steht eine ähnliche Untersuchung (speziesübergreifende PCR-Untersuchung für Bakterien) zur Verfügung, die aber getrennt angefordert werden muss.

Anforderung an das Untersuchungsmaterial

Die Auswahl geeigneten Untersuchungsmaterials richtet sich nach der Infektlokalisation. Da dieses Verfahren auf den unselektiven Nachweis fungaler DNA abzielt, sind nur Proben aus primär sterilen Körperregionen geeignet, die unter möglichst DNA-freien Kautelen gewonnen wurden. Proben, bei denen mit physiologischer Pilzbesiedelung gerechnet werden muss (wie z.B. Wundabstriche, respiratorische Sekrete oder BAL) sind ungeeignet.

Punktate: mind. 2 ml (z.B. Gelenks- oder Pleuraerguss, Aszites, Vitrektomiespülflüssigkeit)

Vitrektomie- oder Vorderkammerpunktat: mind. 200 µl

Liquor: mind. 500 µl, besser 2 ml

Gewebe: so viel wie möglich (bis 1 cm³) (z.B. Organ- oder Hirnbiopsie)

Bitte Hinweise zu Probeentnahme und Transport für Proben zur molekularbiologischen Diagnostik beachten!

Kultur: Einzelkolonie bzw. 200 µl einer Reinkultur (für externe Einsender)

Termine

Das Material wird während der regulären Öffnungszeiten entgegengenommen.

Die Bearbeitung erfolgt werktags.

Durchschnittliche Bearbeitungsdauer

bei negativem Befund: 2 Arbeitstage; bei positivem Befund: bis zu 3 Arbeitstage

Telefonische Befundmitteilung

Immer bei positivem Befund.

Bemerkungen

Bei der speziesübergreifenden PCR-Untersuchung für Pilz DNA handelt es sich um ein laborintern validiertes diagnostisches Verfahren.

Ein negativer Befund schließt eine bestehende floride Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit aus. Beim Vorliegen einer Infektion mit sehr niedriger Erregerzahl kann ein falsch negativer Befund trotz nachweislich hoher Sensitivität des Verfahrens allerdings nicht sicher ausgeschlossen werden. Bei bestimmten Pilzspezies mit rigider Zellwand sowie *Aspergillus spp.* kann zudem die analytische Sensitivität methodenbedingt beeinträchtigt sein.

Bei bestimmten Anforderungsprofilen (z.B. Probenmaterial von immunsupprimierten Patienten) werden zur Schließung von diagnostischen Lücken und zur schnelleren Abklärung zusätzlich orientierende experimentelle *Real-time PCR* Untersuchungen für *Candida spp.* und *Aspergillus spp.* ohne Berechnung durchgeführt.

Bei Verdacht auf Infektionen mit bestimmten hochpathogenen Pilzen wie Zygomyceten (*Mucor*), *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, u.a., ist aufgrund der höheren Sensitivität stets die Anforderung von erregerspezifischen PCR-Untersuchungen (soweit verfügbar) angezeigt.

Wie bei allen speziesübergreifenden Untersuchungen ist ein positiver Befund stets in sorgfältiger Zusammenschau mit anderen mikrobiologischen Befunden sowie dem klinischen Bild des Patienten zu bewerten, da eine Kontamination des Probenmaterials mit exogener DNA während der Probenentnahme, des Transports oder der eigentlichen molekularbiologischen Untersuchung nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

Ein Nachweis von Pilz DNA ist nicht beweisend für das Vorliegen einer floriden Pilzinfektion, da mit PCR-Verfahren auch DNA von nicht mehr vermehrungsfähigen Erregern erfasst wird.

Bei bestimmten Erregergruppen mit nahezu identischen Signatursequenzen in den untersuchten Genregionen kann die molekulare Speziesidentifizierung u.U. nur auf Genus- und nicht bis auf Spezies-Ebene erfolgen.