

BAKTERIELLE BREITSPEKTRUM-PCR

■ Autor

PD Dr. rer. nat. Guido Bloemberg, Leiter
Molekulardiagnostik Unilabs Dübendorf

■ Redaktion

Dr. med. Matthias Kaelin
Med. Direktor Unilabs Schweiz

■ Worum geht es ?

Es geht um den Nachweis und die Identifikation von Bakterien mit klinischer Bedeutung. Die bakterielle Breitspektrum-PCR ist gekennzeichnet durch einen breiten Ansatz, damit möglichst alle Bakterien-Spezies nachgewiesen werden können. Die Analyse ist vor allem relevant für den Nachweis von anspruchsvollen und nicht kultivierbaren Bakterien, somit auch Bakterien, die durch eine Antibiotikaprophylaxe schon abgetötet worden sind.

■ Hintergrund und Indikation

Die bakterielle Breitspektrum-PCR dient dem Nachweis und der Identifizierung von Bakterien anhand der hochkonservierten 16S-rRNA-Gensequenz und stellt somit eine wichtige Ergänzungsanalyse zur klassischen Kulturmethode (und Identifikation mittels MALDI-TOF) dar. Nebst der Identifikation von kultivierten Bakterien liegt die Bedeutung in der Untersuchung von Proben aus normalerweise sterilem Körpermaterial, wo im pathologischen Zustand i.d.R. eine monobakterielle Infektion zu erwarten ist (Referenzen 1-4). Die bakterielle Breitspektrum-PCR wird gezielt eingesetzt, wenn ein Verdacht auf eine bakterielle Infektion vorliegt und die Kultur negativ bleibt, oder wenn ein Verdacht auf eine nicht oder nur schwer kultivierbare Spezies vorliegt. Es müssen strenge präanalytische Bedingungen zur Vermeidung von (Umwelt-) Kontaminationen aus Reagenzien und Transportmaterialien eingehalten werden. Mit der bakteriellen Breitspektrum-PCR wird unspezifisch nach Bakterien gesucht. Die Methode ist gegenüber speziesspezifischen PCR-Tests weniger sensitiv. Die Sequenzierung und Zuordnung der Sequenz mittels Sequenzdatenbanken führt jedoch zu einer optimalen Spezifität.

■ Einführung

Die bakterielle Breitspektrum-PCR wird seit Dezember 2016 am Standort Unilabs Dübendorf durchgeführt.

■ Interpretation

Der Nachweis von Erregern aus klinischen Materialien soll immer in Bezug auf das klinische Bild beurteilt werden, damit mögliche bakterielle (Umwelt-) Kontaminationen erkannt werden.

■ Material und TAT (Turn-Around Time, Antwortzeit)

Primär sterile Materialien, u.a. Punktate, Gewebe, Biopsien, Liquor, Blut (EDTA-Blut), Fremdkörper usw. Zusätzlich sind bakterielle Isolate aus Reinkulturen geeignet.

Die Durchführung der bakteriellen Breitspektrum-PCR beinhaltet mehrere Schritte im Labor (Abbildung 1). Die TAT beträgt 2-3 Arbeitstage (abhängig vom Resultat „negativ“ oder „positiv“).

■ Tarife

Analyse	Resultat	Preis
Bakterielle Breitspektrum-PCR	Negativ	CHF 180.-
Bakterielle Breitspektrum-PCR	Positiv (inkl. Keim-identifikation)	CHF 360.-

■ Literatur

1. Clarridge JE 3rd. 2004. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. Clin Microbiol Rev. 17:840-62.
2. Sontakke S, Cadenas MB, Maggi RG, Diniz PP, Breitschwerdt EB. Use of broad range 16S rDNA PCR in clinical microbiology. J Microbiol Methods. 76:217-25.
3. Keller, Hombach und Bloemberg. 2010. 16S-rRNA-Genbasierte Identifikation bakterieller Infektionen. Biospektrum, 16. Jahrgang. 07.10 Speziell Ausgabe Molekulare Diagnostik.
4. Fehr JS, Bloemberg GV, Ritter C, Hombach M, Lüscher TF, Weber R, Keller PM 2010. Septicemia caused by tick-borne bacterial pathogen Candidatus Neoehrlichia mikurensis. Emerg Infect Dis. Jul;16(7):1127-9.

■ Informationen

PD Dr. rer. nat. Guido Bloemberg

- 📍 Unilabs Dübendorf
- ☎ 058 864 58 37
- ✉ guido.bloemberg@unilabs.com

Dr. sc. nat. Adriano Guetg

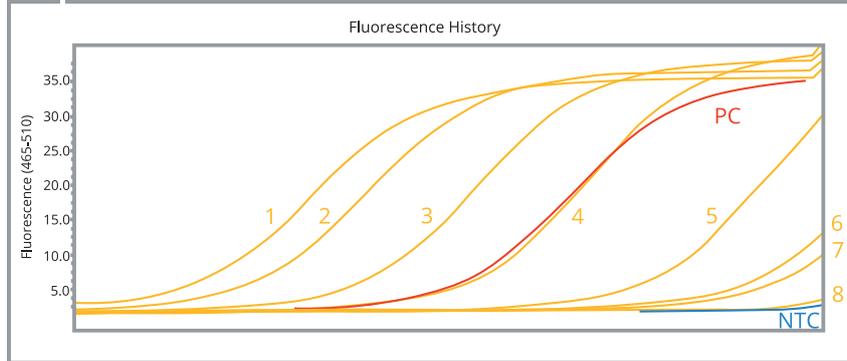
- 📍 Unilabs Dübendorf/Lausanne
- ☎ 058 864 58 12
- ✉ adriano.guetg@unilabs.com

Dr. sc. ETH Marcel Eugster

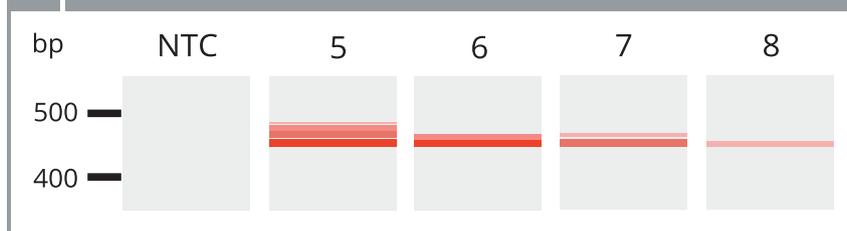
- 📍 Unilabs Dübendorf
- ☎ 058 864 56 44
- ✉ marcel.eugster@unilabs.com

DIE BAKTERIELLE BREITSPEKTRUM-PCR BEINHÄLTET MEHRERE SCHRITTE

1 PCR-bedingte Amplifizierung der 16S Genregion

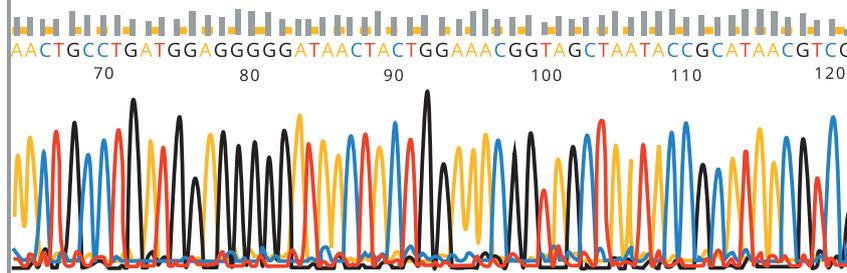


2 Gelelektrophorese-Analyse des PCR-Amplikons



3 Sequenzierung des 16S PCR-Amplikons

Die Sequenz wird mit der Hilfe von Sequenzdatenbanken einer bestimmten Spezies, einem Genus oder einer Familie zugeordnet.



4 Die serielle Verdünnung einer E. coli Suspension ergab eine eindeutige Identifizierung mit der bakteriellen Breitspektrum-PCR bis auf eine Konzentration von 10 Bakterien/ml.

