Therapeutische Umschau 2015; 72 (2): DOI 10.1024/0040-5930/a000647
© 2015 Verlag Hans Huber, Hogrefe AG, Bern
Veröffentlicht unter der Hogrefe OpenMind-Lizenz (http://dx.doi.org/10.1026/a000002)

[1]synlab Suisse SA, Luzern
[2]Kantonsspital Graubünden, Chur
[3]Labormedizinisches Zentrum Dr. Risch, Schaan, Liechtenstein
Raymond Auckenthaler[1], Martin Risch[2,3]

Verdrängt Multiplex PCR den klassischen Kulturnachweis in der Mikrobiologie?

Die Multiplex PCR Technologie hält in der mikrobiologischen Diagnostik mehr und mehr Einzug. Diese Technik erlaubt in einem einzigen Probenlauf die simultane Amplifikation von mehreren DNA/RNA-Zielsequenzen von Erregern über die Speziesebene hinaus. Verschiedene Erreger von Infektionskrankheiten können durch einen Symptom-orientierten Approach eindeutig und rasch mit hoher Zuverlässigkeit nachgewiesen werden. Im Wesentlichen verfügt man heute über Multiplex PCR-Panels zur Abklärung von gastrointestinalen, respiratorischen, urogenitalen Infekten, sowie zur Meningitis-Diagnostik. Das heutige Angebot der Industrie, der Universitätsspitäler und der größeren Privatlabors der Schweiz wird tabellarisch dargestellt und kommentiert.

Einführung

Die mikrobiologische Diagnostik hat zum Ziel in Patientenproben die für eine Infektionskrankheit verantwortlichen Erreger (Bakterien, Pilze, Viren, Parasiten) zu identifizieren und, falls indiziert, eine Resistenzprüfung durchzuführen. Die klassische Mikrobiologie beruht auf dem Nachweis mittels Mikroskopie und der Kultur auf Nährmedien. Zur Keimidentifizierung werden vorwiegend biochemische Methoden, neuerdings die MALDI-TOF (Matrix Associated Laser Desorption/Ionization – Time of Flight – Massenspektrometrie) Technologie verwendet. Die Resistenzprüfung von Antibiotika wird für pathogene Keime nach dem EUCAST oder CLSI Standard in Form eines Antibiogramms resultiert. Nachteil dieser Verfahren sind die obligaten Inkubationszeiten: 18 Stunden für das Wachstum von Kolonien, 5 bis 18 Stunden für die Identifikation und das Antibiogramm. Somit benötigt ein mikrobiologischer Auftrag von der Probeentnahme bis zum Resultat in der Regel zwei bis drei Tage.

Der technische Fortschritt der letzten Jahre erlaubt heute, die Zeit von der Probenankunft im Labor bis zum Resultat wesentlich zu verkürzen. Dazu gehört die Identifikation eines Keimes innerhalb von wenigen Minuten mittels MALDI-TOF Technik, welche in der Routine der meisten diagnostischen Mikrobiologielabore Einzug gehalten hat [1]. Für die Erstellung des Antibiogrammes kommen weiterhin primär die klassischen Methoden zur Anwendung: der Arzt kennt den Namen des Keimes also vor Erhalt des Antibiogramms, hat aber einen wichtigen Hinweis auf den Infekt Herd und kann eine gezielte empirische Antibiotikatherapie entsprechend der epidemiologischen Resistenzlage vornehmen.

Multiplex PCR-Technologie

Die heute schon klassische PCR-Technologie (Polymerase Chain Reaction) beruht auf der in vitro Vervielfältigung spezifischer Nukleinsäurensequenzen eines Mikroorganismus (Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten). Im Vergleich zu herkömmlichen Methoden zeichnet sich die PCR vor allem durch hohe Sensitivität, Spezifität und Schnelligkeit aus. Vor einigen Jahren konnte jeweils in einem Untersuchungsgang gleichzeitig nur ein einziges spezifisches DNA/RNA-Target für einen bestimmten Keim nachgewiesen werden. Kamen bei einer klinischen Fragestellung mehrere Keime in Betracht, musste also mit erheblichem Zeit- und Kostenaufwand eine Mehrzahl von individuellen PCR-Analysen durchgeführt werden. In den letzten Jahren hat die Multiplex PCR Technologie in der mikrobiologischen Diagnostik Einzug gehalten. Sie erlaubt eine simultane Amplifikation von mehreren DNA/RNA-Zielsequenzen über die Speziesebene hinaus in einem einzigen Probenlauf. Die Automatisierung der Analytik und der erhebliche Zeitgewinn machen die Multiplex-PCR sehr attraktiv. Verschiedene Erreger von bestimmten Infektionskrankheiten können durch einen Symptom-orientierten Approach eindeutig und rasch mit hoher Zuverlässigkeit nachgewiesen werden. Im Wesentlichen verfügt man heute über Multiplex PCR-Panels zur Abklärung von gastrointestinalen, respiratorischen, urogenitalen Infekten, sowie zur Meningitis-Diagnostik. Das heutige Angebot der Industrie, der Universitätsspitäler und der größeren Privatlabors der Schweiz ist im Folgenden dargestellt (Stand Oktober 2014). Zur besseren Übersicht wird in dieser Arbeit nur auf Multiplex-Analysen mit mehr als 2 Ziel-Sequenzen eingegangen. Selbstverständlich bieten sowohl die Industrie als auch Labore Einzelteste an, welche, falls mehrere Teste einzeln durchgeführt werden, auch zu einem „Multiplex-Resultat" führen, jedoch mit wesentlich mehr Aufwand.

Gastrointestinale Infektionen

Die Stuhlflora ist relativ konstant und stellt mit 10E12 Keimen/Gramm und

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

über 1000 Keimarten die höchste Bakterienkonzentration des menschlichen Körpers dar. Durchfall wird von Bakterien, Viren oder Parasiten verursacht, meist exogen, infolge fäko-oraler Infektion mit wenigen bekannten pathogenen Keimen, seltener endogen, infolge Immunosuppression oder gestörter Darmflora nach Antibiotikagabe. Da verschiedene Erreger Durchfall verursachen, muss das klinisch-mikrobiologische Labor Techniken wie Kultur-, ELISA-, Antigene-, Mikroskopie- und Amplifikationsmethoden verwenden. Die traditionelle Stuhluntersuchung mittels Kultur beschränkt sich beim ambulanten Patienten auf die Suche nach den klassisch pathogenen Keimen wie Salmonellen, Shigellen, Campylobacter, *Yersinia enterocolitica* und allenfalls toxigene *E. coli*. Bei hospitalisierten Patienten ist vorwiegend die Suche nach *C. difficile* Toxin, Noroviren und Rotaviren angezeigt, bei Tropenrückkehrer mit Ruhr-artigen Durchfällen die entsprechenden pathogenen, invasiven oder toxigenen *E. coli (EIEC, ETEC, EHEC (STEC/VTEC)* und Parasiten. Diese Kategorien lassen sich anamnestisch selten klar differenzieren. Lebensweise mit Stress, interkontinentalen Flugreisen, nicht optimalen Essmöglichkeiten tragen dazu bei. Ungefähr 80 % der Diarrhöen bleiben ungeklärt, da eine vollständige Abklärung mit herkömmlichen Methoden finanziell und zeitlich zu aufwendig ist. In klinisch dringlichen Situationen und im Hinblick auf eventuell indizierte epidemiologische Maßnahmen ist jedoch eine rasche ätiologische Diagnose von großem Nutzen.

Die von der Industrie entwickelten PCR Multiplex-Panels bieten heute die Möglichkeit ein Gastroenteritis-Syndrom innerhalb von wenigen Stunden mit einer einzigen Stuhluntersuchung auf Bakterien, Viren und Parasiten ganzheitlich abzuklären und das Resultat gleichentags dem behandelnden Arzt mitzuteilen. Die Analysen ergeben entweder ein qualitatives (Nachweis eines Keimes ja/nein) oder gar ein semiquantitatives Resultat (wenig/viel). Nicht seltene Mischinfektionen mit mehreren Erregern werden ebenfalls erfasst. Traditionelle Untersuchungsmethoden haben eine Sensitivität von < 50 % sind aber spezifisch. Multiplex PCR weisen eine höhere Sensitivität auf (> 80 %), sind aber weniger spezifisch [2]. Deshalb sind Multiplex-PCR-Methoden für ein rasches Screening geeignet mit am gleichen Tag zielgerichteter Kultur und allfälligem Antibiogramm nach 1 – 2 Tagen.

Angebot der diagnostischen Industrie

Tabelle 1 stellt eine repräsentative Auswahl von industriellen Produkten für PCR Multiplex-Panels zur Abklärung von Durchfallerkrankungen dar. Insgesamt werden 8 Bakterienarten, 10 Bakterientoxine, 5 Virenarten und 6 Parasiten angeboten, jeweils mit einer oder mehreren Spezies beziehungsweise Subtypen. Die Panels sind je nach Hersteller und Amplifikationstechnik unterschiedlich aufgebaut, entweder die vier Kategorien Bakterien, Toxine, Viren und Parasiten vereint in einem Panel oder unterteilt in zwei bis drei Kategorien. Selbstverständlich bieten dieselben Firmen die im Panel enthaltenen Analysen auch als Einzelteste an. Die Instrumentation zur Durchführung dieser Test-Panels ist entweder an die Herstellerfirma gebunden oder kann auf gebräuchlichen Instrumenten für PCR-Techniken verarbeitet werden.

Angebot der Privatlabore

Tabelle 2 zeigt das Angebot größerer Privatlabore in der Schweiz. Verwendet werden von der diagnostischen Industrie angebotene CE markierte Multiplex-Panels, selten selbstentwickelte. Die Preise für die einzelnen Panels variieren je nach Anzahl der untersuchten Parameter von 200 – 500 CHF, wobei von den Labors im Hinblick auf ein effizientes und vernünftiges Kosten-Nutzen-Verhältnis bewusst nur eine beschränkte Anzahl von Parametern gemäß Eidgenössischer Analysenliste verrechnet werden. Eine offizielle Preisgestaltung der Behörden für Multiplex-PCR-Analysen liegt heute nicht vor. Zur Abklärung derselben Erreger gemäß Analysenliste ist ein Multiplex PCR-Panel günstiger und schneller als die klassische Kultur, dem Antigennachweis oder Einzel-PCR. Stuhlproben welche am Morgen frühzeitig ins Labor gelangen, werden in der Regel an 5 oder 6 Wochentagen abgearbeitet und das Resultat am gleichen Tag mitgeteilt. Etwaige zusätzliche Abklärungen (Bestätigungsteste, Antibiogramme) können vom selben Material gleichentags angelegt werden, Resultat meist nach 24 Stunden.

Angebot öffentlicher Labore

Mikrobiologische Labors der Universitätsspitäler bieten vorläufig keine Multiplex-Panels zur Abklärung von Durchfall an (Ausnahme Universitätsspital Basel). Aufgrund der engen Zusammenarbeit mit Spezialisten für Infektionskrankheiten, komplexen Krankheitsbilder, Immunsuppression, Komplikationen, postoperativem Fieber und andere mehr, wird hier diagnostisch gezielt gemäß internen Algorithmen vorgegangen. Dabei werden, falls die PCR zur Anwendung kommt, Analysen sehr zielgerichtet oder mit speziellen Panels für eng definierte Erreger durchgeführt. Auf eine detaillierte Auflistung des Vorgehens wird in dieser Arbeit bewusst verzichtet. Das Vorgehen in Kantonsspitäler ist unterschiedlich: analog den Universitätsspitälern oder seltener die Verwendung von Multiplex PCR-Panels wie in Privatlaboren.

Respiratorische Infekte

Das Syndrom „Grippaler Infekt“ oder „Husten, Auswurf, Fieber“ ist mit einer Vielzahl von Ätiologien vereinbar, verursacht vorwiegend durch Viren, weniger durch Bakterien und Pilze. Die ambulant erworbene Pneumonie *(community acquired pneumonia = CAP)* wird durch klassische Erreger, bei der Untergruppe der typischen Pneumonie von *Streptococcus pneu-*

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

Tabelle 1 Multiplex PCR-Panels zur Durchfall-Abklärung, diagnostisches Industrieangebot
Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	Durchfall	BD-Max	BioFire	Cepheid	CLART	Fast Track	Luminex	Patho finder	Sacace	Seegene
Bakterien	Salmonella spp.	•	•		•	•	•	•	•	••
	Shigella spp.	•	•		••••	•	•	•	•	••••
	Campylobacter spp.	••	•••		•••••	••	•	••	•	••
	Aeromonas spp.				•		•	•		••••••
	C. difficile Toxin A/B oder B		•	•	•	•	•	•		•
	Clostridium perfringens									•
	Vibrio spp.		••••				•			•••
	Yersinia spp.		•		••••	•	•	•		•
Toxine	E. coli O157:H7 EHEC				•		•	•		•
	E. coli ETEC lt/st		•		•		•			
	E. coli VTEC					•	•			•
	EAEC		•							
	EPEC		•		•					
	EIEC/Shigella	•	•		•					
	Plesiomonas shigelloides		•							
	Shigalike Toxin (STEC) stx1/stx2	•	•				•	•		
	SXT 1/ STX2 (Shigatoxin)	•	•					•		•
	Shigella dysenteriae Toxin	•								
Viren	Adenovirus	•	•			•	••	•	•	•
	Astrovirus		•			•		•		•
	Norovirus GI/GII	•	•	•		•	•	•	•	•
	Rotavirus A		•			•	•	•	•	•
	Sapovirus		••••			•				
Parasiten	Blastocystis									
	Dientamoeba fragilis							•		
	Entamoeba histolytica	•	•				•	•		
	Giardia	•	•				•	•		
	Cyclospora		•							
	Cryptosporidium	••	•				•	•		

moniae, Haemophilus influenzae, oder Legionellen, bei der atypischen Pneumonie von *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* oder Viren verursacht. Die im Krankenhaus erworbene Pneumonie *(hospital acquired pneumonia = HAP)* ist nosokomial und entwickelt sich erst mehr als zwei Tage nach der stationären Aufnahme. Eine Sonderform stellt die beatmungsassoziierte, nosokomiale Pneumonie *(ventilator associated pneumonia = VAP)* dar. Häufige Erreger sind *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Proteus* spp.,

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

Tabelle 2 Multiplex PCR-Panels zur Durchfall-Abklärung, diagnostisches Angebot von Privatlaboren
Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	Durchfall	Taxpunkte (= CHF) Analysenliste für Kultur Antigen PCR		Labor A	Labor B	Labor C	Labor D	Labor E	Labor F	Labor G
		negativ	positiv							
Bakterien	Salmonella spp.	78	155	•	•		•			•
	Shigella spp.			•	•		•	•		•
	Campylobacter spp.			••	•		••	••		•
	Aeromonas spp.	22	70				•			•
	C. difficile Toxin A/B oder B	101	124		•		•	•		•
	Clostridium perfringens	22	70				•			
	Vibrio spp.	22	70		•		•			•
	Yersinia spp.	22	70		•		•	•		•
Toxine	E. coli O157: H7 EHEC	180	180	•			•	•		•
	E. coli ETEC lt/st	180	180		•					•
	E. coli VTEC	180	180					•		•
	EAEC	180	180							
	EPEC	fehlt	fehlt							
	EIEC/Shigella	180	180		•					
	Plesiomonas shigelloides	22	70							
	Shigalike Toxin (STEC) stx1/stx2	180	180		•					•
	SXT 1/ STX2 (Shigatoxin)	180	180							
	Shigella dysenteriae Toxin	180	180							
Viren	Adenovirus	29	29		••		•	•		••
	Astrovirus	fehlt	fehlt				•	•		
	Norovirus GI/GII	180	180		•		•	•		•
	Rotavirus A	14,8	14,8		•		•	•		•
	Sapovirus	fehlt	fehlt							
Parasiten	Blastocystis	91	91							
	Dientamoeba fragilis									
	Entamoeba histolytica				•					•
	Giardia				•					•
	Cyclospora	fehlt	fehlt							
	Cryptosporidium	45	45		•					•

Serratia spp., *Klebsiella pneumoniae* und auch Pilze.

Sputum Untersuchungen sind schwierig und nicht leicht zu interpretieren. In einem Pneumonieherd finden sich bestenfalls 10E7 Keime pro ml. Naturgemäß ist jedes auch tief ausgehustete Sputum mit Rachenflora kontaminiert, welche mehr als 10E10 Keime pro ml aufweist. Traditionelle Methoden zur Abklärung von respiratorischen Infekten sind zudem aufwändig und bedingen den Einsatz von Mikroskopie, semiquantitativen Kulturen, Antigennachweis und Molekularbiologie.

Zur Abklärung der vielseitigen Ätiologie, bisweilen auch Mischinfektionen, stehen auch hier Multiplex-PCR Panels der diagnostischen Industrie zur Verfügung. Mit semiquantitativen Angaben pro nachgewiesenen Erreger wird eine schnelle und präzisere Diagnostik ermöglicht. Dies ist besonders bei Kindern und älteren Personen für das therapeutische Vorgehen wichtig. Da zur korrekten Antibiotikatherapie

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

Tabelle 3 Multiplex PCR-Panels zur Pneumonie-Abklärung, diagnostisches Industrieangebot
Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	Pneumonien	BD-Max	BioFire	Cepheid	CLART	Fast Track	Luminex	Patho finder	Sacace	Seegene
Typische	Streptococcus pneumoniae				•	•	•			•
	Haemophilus influenzae				•	•	•			•
	Staphylococcus aureus				•	•				
Atypische	Bordetella pertussis		•		•		•	•	•	•
	Bordetella parapertussis				•				•	
	Bordetella spp				••				••	
	Chlamydophila pneumoniae		•		•	•	•	•	•	•
	Legionella pneumophila					•	•	•		•
	Moraxella catarrhalis				•					
	Mycoplasma pneumoniae		•		•	•	•	•	•	•
Virale	Adenovirus		•		•	•	•	•		•
	Bocavirus				•	•		•		••••
	Coronavirus		••••		•	••••		••••		•••
	Enterovirus		•		•	•		•		•
	Influenza A Virus		••••	••	•••	••	•	••		•
	Influenza B Virus		•	•	•	•	•	•		•
	Influenza C Virus				•					
	Metapneumovirus		•		••	••	•	•		•
	Parainfluenza Virus		••••		••••	••••	•	••••		••••
	Parechovirus					•				
	Respiratory syncytial virus		•	•	••	••	•	••		••
	Rhinovirus		•		•	•	•	•		•••

der geläufigen bakteriellen Erreger wie Pneumokokken, Haemophilus, Chlamydophila infolge stabiler Resistenzlage kein Antibiogramm notwendig ist, könnte in der Routine auf Kultur und Antibiogramm verzichtet werden. Ausnahme bilden aktuell vermehrt Mykoplasmen. Infolge zunehmender Resistenz gegen Makrolide wird eine gezielte Resistenzprüfung empfohlen. Resultate von Multiplex PCR-Analysen liegen je nach Methodik nach 1 – 4 Stunden vor, was für das weitere klinisch-therapeutische Vorgehen, sowie für epidemiologische Maßnahmen sehr wertvoll ist.

Angebot der diagnostischen Industrie

Tabelle 3 stellt eine repräsentative Auswahl von Industrie-Kits für PCR-Multiplex-Panels zur Abklärung von Infektionen des Respirationstraktes dar. Insgesamt werden 10 Bakterienarten und 12 Virenarten angeboten, jeweils mit einer oder mehreren Spezies beziehungsweise Subtypen. Für spezielle Erreger wie *Pneumocystis jirovecii*, Nokardien, Mykobakterien, Aspergilllen etc sind auch PCR-Einzeltests erhältlich. Die Kits sind vorwiegend auf das Erfassen von typischen und atypischen Pneumonien angelegt, separat die viralen Pneumonien. Für die Diagnose nosokomialer Pneumonien sind die erhältlichen Multiplex PCR-Panel weniger geeignet. Einige Universitätsinstitute verwenden deshalb sehr spezielle Kits (Unyvero®) welche *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis* group, 14 Gramnegative Bakterien, *Pneumocystis jirovecii* und 17 Resistenzmarker für Antibiotika

Tabelle 4 Multiplex PCR-Panels zur Pneumonie-Abklärung, diagnostisches Angebot von Privatlabore. Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	Pneumonien	Taxpunkte (= CHF) Analysenliste für Kultur Antigen PCR		Labor A	Labor B	Labor C	Labor D	Labor E	Labor F	Labor G
		negativ	positiv							
Typische	Streptococcus pneumoniae	55	86				•			•
	Haemophilus influenzae						•			•
	Staphylococcus aureus									
Atypische	Bordetella pertussis	180	180				•	•	•	•
	Bordetella parapertussis									•
	Bordetella spp									
	Chlamydophila pneumoniae	180	180				•	•	•	•
	Legionella pneumophila	42	42				•	•		•
	Moraxella catarrhalis	22	70							
	Mycoplasma pneumoniae	180	180				•	•	•	•
Virale	Adenovirus	180	180				••••		•	•
	Bocavirus	fehlt	fehlt							••••
	Coronavirus	fehlt	fehlt				••••		••••	•••
	Enterovirus	180	180				••••		•	•
	Influenza A Virus	180	180				••	•	••••	•
	Influenza B Virus	180	180					•	•	•
	Influenza C Virus	180	180							
	Metapneumovirus	fehlt	fehlt				••		•	•
	Parainfluenza Virus	29	29				••••		••••	••••
	Parechovirus	fehlt	fehlt							
	Respiratory syncytial virus	29	29				••		•	••
	Rhinovirus	fehlt	fehlt				••		•	•••

gleichzeitig innerhalb von 4 Stunden bestimmen können!

Angebot der Privatlabore

Tabelle 4 zeigt das Angebot größerer Privatlabore in der Schweiz. Auffallend ist, dass die Multiplex-PCR zur Abklärung von respiratorischen Infekten noch wenig angewendet wird. Gemäß mündlichen Angaben hat das eine oder andere Labor entsprechende Tests vom Angebot zurückgezogen, weil sie nicht oder sehr selten verlangt wurden. Wenn man jedoch an die SARS oder H1N1 Epidemie zurückdenkt und heute an Ebola, drängt sich eine schnelle virale Diagnostik mit vitalen und epidemiologischen Konsequenzen auf. Die Sicherstellung einer viralen Genese hat – konsequent angewendet – auch einen günstigen Einfluss auf unnötig verschriebene Antibiotika bei respiratorischen Infekten. Die Preise für die einzelnen Panels variieren ähnlich der Durchfalldiagnostik je nach Anzahl der untersuchten Parameter von 250 – 500 CHF. Eine offizielle Preisgestaltung der Behörden für Multiplex PCR-Analysen respiratorischer Infekte liegt heute nicht vor. Analysenresultate sind wie bei Durchfall-Multiplex-Analysen nach wenigen Stunden verfügbar und werden meist täglich angeboten. Im Gegensatz zu Durchfallerkrankungen sind zusätzliche Analysen oder Bestätigungstest/Antibiogramme wie schon erwähnt nicht obligat.

Angebot öffentlicher Labore

Mikrobiologische Labors der Universitätsspitäler bieten heute in der Regel keine PCR Multiplex-Panels zur Abklärung von Pneumonien an. Die Erklärung dafür liegt analog der dort gebräuchlichen Durchfalldiagnostik in gezielten Einzeluntersuchungen. Zudem sind die Panels für im Spital erworbene nosokomiale Pneumonien für Problemkeime zu wenig breit angelegt. Gemäß mündlichen Stichproben in Kantonsspitälern folgen diese entweder den Prinzipien der Universitätsinstitute oder den Privatlabors.

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

Tabelle 5 Multiplex PCR-Panels zur STI-Abklärung, diagnostisches Industrieangebot
Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	STI	BD-Max	BioFire	Cepheid	CLART	Fast Track	Lumi-nex	Patho finder	Sacace	Seege-ne
Bakterien + Hefen	Chlamydia trachomatis			•	•	•	•		•	•
	Neisseria gonorrhoeae			•	•	•	•		•	•
	Candida spp.				•••••••					
	Haemophilus ducreyi				•					
	Treponema pallidum				•					
	Mycoplasma genitalium				•	•	•		•	•
	Mycoplasma hominis				•		•			•
	Ureaplasma parvum				•	•				•
	Ureaplasma urealyticum				•	•	•			•
	Gardnerella vaginalis					•				
Viren	Herpes Simplex Virus 1 (HSV1)				•	•	•			
	Herpes Simplex Virus 2 (HSV2)				•	•	•			
Parasiten	Trichomonas vaginalis			•	•	•	•		•	•

Tabelle 6 PCR-Multiplex Kit-Panels zur STI-Abklärung, diagnostisches Angebot von Privatlaboren
Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	STI	Taxpunkte (= CHF) Analysenliste für Kultur Antigen PCR		Labor A	Labor B	Labor C	Labor D	Labor E	Labor F	Labor G
		negativ	positiv							
Bakterien + Hefen	Chlamydia trachomatis	190	190	•	•	•	•	•	•	•
	Neisseria gonorrhoeae			•	•	•	•	•	•	•
	Candida spp.	22	70							
	Haemophilus ducreyi	180	180							
	Treponema pallidum									
	Mycoplasma genitalium	230	230	•		•	•	•		•
	Mycoplasma hominis			•		•	•	•		•
	Ureaplasma parvum			•			•	•		
	Ureaplasma urealyticum			•		•	•	•		•
	Gardnerella vaginalis	22	70							
Viren	Herpes Simplex Virus 1 (HSV1)	180	180	•						
	Herpes Simplex Virus 2 (HSV2)	180	180	•		•				
Parasiten	Trichomonas vaginalis			•		•	•	•		•

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

Tabelle 7 Multiplex PCR-Panels zur Meningitis-Abklärung, diagnostisches Industrieangebot
Legende: Ein Punkt (•) entspricht einer Spezies beziehungsweise einem Subtyp, ein Rahmen = 1 Panel

	Meningitis	BD-Max	BioFire	Cepheid	CLART	Fast Track	Luminex	Patho finder	Sacace	Seegene
Bakterien + Hefen	Streptococcus pneumoniae		•			•	•			•
	Neisseria meningitidis		•			•	•			•
	Haemophilus influenzae		•			•	•			•
	Listeria monocytogenes		•			•	•			•
	Group B Streptococcus		•	•		•	•			•
	E. coli		•			•				
	Cryptococcus neoformans/gattii		•							
Viren	CMV (HHV5) (CE0086)		•				•			•
	EBV (HHV4)		•				•			•
	Enterovirus		•	•••••		•				
	Herpes simplex HSV-1+HSV 2		•			•	•			•
	Human herpesvirus HHV6		•				•			•
	Mumps					•				
	Parechovirus					•				
	Varizella zoster virus VZV (HHV3)		•	•		•	•			•

Sexuell übertragbare Infektionen (STI)

Sexuell übertragbare Infektionen (Sexually transmitted infections = STI) nehmen weltweit zu. Gonokokken-Infektionen sind bei 10 % der Männer und bei 50 % der Frauen asymptomatisch. Die Symptomatologie von Chlamydien-Infektionen ist noch diskreter. Die Diagnostik von STI beschränkt sich in der Routine meist auf den Nachweis von *Chlamydia trachomatis* und *Neisseria gonorrhoeae* mittels PCR und lässt andere mögliche Ursachen außer Acht. Tatsächlich ist die Symptomatik einer Urethritis, Salpingitis, Adnexitis, Bartholinitis und andere auch mit anderen Keimen wie Mycoplasmen, Ureaplasmen, Trichomonaden vereinbar. In Tabelle 5 und Tabelle 6 ist das Angebot der Industrie, beziehungsweise der Privatlabore dargestellt. In Universitätsspitälern scheint die Multiplex PCR für STI nicht angewendet zu werden.

Die simultane Diagnostik mit einer Multiplex PCR in einem Abstrich oder einem Erststrahlurin ersetzt in den Privatlaboren mehr und mehr die traditionellen Kulturverfahren. Allerdings muss bei positiver Multiplex-PCR für *Neisseria gonorrhoeae* aus therapeutischen und epidemiologischen Gründen auch eine Kultur mit Antibiogramm angelegt werden. In Zukunft könnten diese STI-Panels mehr zielgerichtet zum Beispiel für Genitalulkus (*Herpes simplex 1/2*, *Chlamydia trachomatis Lymphogranuloma venereum*, *Haemophilius ducreyi* und T*reponema pallidum*) Vaginosis und andere ausgerichtet werden.

Meningitis

Die Meningitis ist ein medizinischer Notfall, welcher besonders bei bakterieller Ursache keine Verzögerung der Therapie erlaubt. Eine empirische Antibiotikatherapie wird deshalb oft schon vor der Lumbalpunktion eingeleitet, was den kulturellen Nachweis bisweilen verunmöglicht. Die Multiplex PCR für Liquordiagnostik erlaubt hier dank der Untersuchung von DNA auch den Nachweis abgetöteter Keime. Die von der Industrie angebotenen Panels erlauben die klare Unterscheidung bakterieller und viraler Meningitiden (Tabelle 7). In öffentli-

https://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0040-5930/a000647 - Wednesday, May 01, 2024 3:50:27 PM - IP Address:3.19.31.73

chen und privaten Labors steht dieses Angebot meist noch nicht zur Verfügung, sollte aber in naher Zukunft eingeführt werden.

Konklusion

Die Liste von möglichen sinnvollen Einsatzgebieten für Multiplex PCR ließe sich noch weiterführen und ist längst nicht abschließend, würde aber den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Die Stärke der Multiplex PCR liegt in der raschen Verfügbarkeit einer breiten Anzahl von entscheidenden Informationen. Die Qualität der Information geht weit über die kultivierbare Speziesgrenze hinaus und beinhaltet wichtige Charakteristika. Diese komplexe Information erlaubt eine große differentialdiagnostische Eingrenzung und somit ein verkürztes zielgerichtetes Vorgehen im Abklärungsgang von klinischen Fragestellungen. Der geschickte Einsatz dieser Technologie unter anderem in Kombination mit kulturbasierten Verfahren wird in absehbarer Zeit ein Differenzierungsmerkmal unter den verschiedenen Anbietern ausmachen. Mittels geschlossener PCR-Systeme wird sich die Multiplex PCR Analytik in Zukunft weiter dezentralisieren, um schnelle klinische Entscheidungen den Patienten zugänglich zu machen.

Do Multiplex PCR techniques displace classical cultures in microbiology?

Multiplex PCR technologies progressively find their way in clinical microbiology. This technique allows the simultaneous amplification of multiple DNA targets in a single test run for the identification of pathogens up to the species level. Various pathogens of infectious diseases can be detected by a symptom-oriented approach clearly and quickly with high reliability. Essentially multiplex PCR panels are available for clarification of gastrointestinal, respiratory, sexually transmitted infections and meningitis. Today's offer from industry, university hospitals and large private laboratories of Switzerland is tabulated and commented.

Literatur

1. Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). Applied Microbiology and Biotechnology 2011; 93: 965 – 74.
2. Liu J, Kabir F, Maneh J et al. Development and assessment of molecular diagnostic tests for 15 enteropathogens causing childhood diarrhea: a multicentre study. Lancet Infect Dis 2014; 14: 715 – 24.

Korrespondenzadresse

Prof. em. Dr. med.
Raymond Auckenthaler
Chief Medical Officer
synlab Suisse SA
Alpenquai 14
6002 Luzern

raymond.auckenthaler@synlab.com