

9

Indikationen für die molekulare Diagnostik – Bakterien, Pilze, Eukaryonten

Udo Reischl

Medizinische Mikrobiologie beschäftigt sich traditionell mit der Isolierung und Identifizierung humanpathogener Organismen. Der mikroskopische Direktnachweis und die kulturelle Vermehrung der Erreger in geeigneten Nährmedien mit nachfolgender phänotypischer Charakterisierung gilt nach wie vor als Goldstandard für den Nachweis von bakteriellen und fungalen Pathogenen in klinischem Probenmaterial. Im positiven Fall liefert ein Grampräparat bereits kurz nach dem Probeneingang sehr hilfreiche Information bezüglich einer initialen Therapieempfehlung. Nach erfolgreicher Anzucht der Erreger kann anschließend eine wesentlich präzisere Aussage über die im Probenmaterial vorliegenden Spezies sowie das Ergebnis der Resistenztestung mitgeteilt werden. Diese Art der Diagnostik hat sich unter steter Optimierung der jeweiligen Untersuchungsverfahren und -reagenzien bewährt, kann trotz relativ hohem Personalaufwand ökonomisch durchgeführt werden und liefert vor allem die für den Kliniker wertvollen Aussagen über die Vermehrungsfähigkeit und das Resistenzprofil der nachgewiesenen Erreger. Naturgemäß eignet sich diese Strategie nicht, oder zumindest eingeschränkt, für den Nachweis von langsam wachsenden oder nicht kultivierbaren Erregern sowie für die Untersuchung von Probenmaterial von antibiotisch vorbehandelten Patienten. Abhängig von der Art der angeforderten Untersuchungen und dem Wachstumsverhalten der vorliegenden Erreger kann die abschließende Befundung mitunter Tage bis Wochen in Anspruch nehmen. Eine möglichst kurze Zeitspanne zwischen der Probenentnahme und dem Vorliegen eines aussagekräftigen mikrobiologischen Befundes kann aber in vielen Fällen entscheidend für die Einleitung einer spezifischen und damit erfolgreichen und ökonomischen antibiotischen Therapie sein.

Nach einer eingehenden Untersuchung des mikroskopischen bzw. histologischen Präparats erfolgt der Nachweis von Pilzen, Parasiten oder anderen eukaryonten Pathogenen im klinischen Untersuchungsmaterial vielfach durch Anzucht in speziellen Zellkultursystemen und/oder über immunologische Testsysteme (wie ELISA, Western-Blot oder Immunfluoreszenz unter Verwendung von nativen oder rekombinanten Antigenen bzw. Antikörpern).

Die Vorteile serologischer Nachweisverfahren zum Nachweis der Immunantwort des infizierten Patienten liegen vor allem in der hohen Sensitivität, den kurzen Detektionszeiten, den relativ niedrigen Kosten und nicht zuletzt in der Möglichkeit der Bestimmung des Infektionsstadiums (IgM, IgG). Immunologische Assays weisen im Rahmen ihres routinemäßigen Einsatzes aber auch einige methodenbedingte Nachteile auf. Selbst bei Immunkompetenten besteht generell eine gewisse “diagnostische Lücke” zwischen dem Zeitpunkt der Infektion und der Ausbildung von Antikörpern. Häufig sind aufgrund der begrenzten Affinität zwischen Antigen und Antikörper auch unspezifische bzw. Kreuzreaktionen zu beobachten, bei latenten Infektionen fehlen häufig die entsprechenden antigenen Determinanten im zu analysierenden Probenmaterial oder es können bestimmte Erreger aufgrund von Antigendrift nicht ausreichend erfasst werden; z. B. werden Epitope verändert, maskiert oder verschwinden. Auch bei Immunsupprimierten oder genetisch determinierten *Nonrespondern* (Personen, die gegen bestimmte Antigene zu keiner Immunreaktion befähigt sind), ist über immunologische Methoden oft nur eine unzureichende diagnostische Abklärung möglich.

Aufgrund der geschilderten Limitationen konventioneller Testsysteme oder -strategien, die auf eine erfolgreiche Anzucht und den Nachweis charakteristischer phänotypischer Merkmale der Erreger oder die Immunantwort von Infizierten abzielen, liegen die potenziellen Einsatzgebiete von modernen Nukleinsäuregestützten Methoden zum gezielten Nachweis von Bakterien, Pilzen oder Viren auf der Hand. Als Vorteile wären hier beispielsweise die hohe Sensitivität, die Schnelligkeit, die Unabhängigkeit von einer erfolgreichen kulturellen Anzucht, der Erregernachweis auch bei fehlender Immunantwort sowie die Möglichkeit zum Nachweis ganzer Erregergruppen zu nennen.

Mit der Verfügbarkeit von hochsensitiven Amplifikations- und Detektionsverfahren zur sequenzspezifischen Charakterisierung der Amplifikationsprodukte eröffneten sich in letzter Zeit daher neue Möglichkeiten für eine kulturunabhängige Erregeridentifizierung. Wie in den vorhergehenden Kapiteln ausführlich dargestellt umfasst der Begriff *Nukleinsäure-Amplifikationstechniken* mittlerweile ein breites Spektrum unterschiedlicher molekularbiologischer Methoden, die alle für den gezielten Nachweis von kleinsten Mengen an Nukleinsäuren (DNA oder RNA) entwickelt wurden. In vielen Bereichen der modernen mikrobiologischen Diagnostik erweist sich der Einsatz dieser enorm sensitiven, spezifischen und zumeist auch sehr schnellen Testsysteme bereits als ideale Ergänzung zu konventionellen Untersuchungsverfahren wie Mikroskopie und Kultur. Sowohl die ständig zunehmende Zahl von pathogenen Erregern, die Fortschritte bei der Aufklärung von komplexen Pathogenitätsmechanismen, aber auch die Verbesserung der antibiotischen und antiviralen Medikation zur gezielten Behandlung von Infektionserkrankungen fordern eine adäquate infektiologische Diagnostik. Unter Ausnutzung des hohen diagnostischen Potentials der Nukleinsäuregestützten Testsysteme werden derzeit in enger Zusammenarbeit von Klinikern und Molekularbiologen eine Reihe von maßgeschneiderten Anwendungsverfahren entwickelt, die dazu beitragen, die ständig steigenden Anforderungen an die mikrobiologische Diagnostik zu erfüllen.

Neben einigen unumstrittenen Vorteilen haben diese neuen Methoden aber auch bestimmte Nachteile. Dazu zählen aus infektionsdiagnostischer Sicht insbesondere die fehlende Möglichkeit einer Lebend/Tot Unterscheidung der nachgewiesenen Erreger, die relativ hohen Kosten sowie das mit der enormen analytischen Sensitivität einhergehende Kontaminationsrisiko. Daher sollte man sich gerade im Umfeld der medizinischen Diagnostik davor hüten, die Verwendung von Nukleinsäurediagnostik generell zu “beweihräuchern” – um nicht damit, vielleicht auch manchmal ungewollt, dem unkontrollierten Einsatz dieser relativ kostenintensiven Testsysteme Vorschub zu leisten. Andererseits sollten aber wie auch immer geartete Vorbehalte gegenüber diesen neuen diagnostischen Verfahren abgebaut werden und nach sorgfältiger Kosten/Nutzen-Analyse, einer klinischen Validierung der einzelnen Protokolle, und damit einer genaueren Eingrenzung der potentiellen Indikationsgebiete, zu deren gezieltem Einsatz zum Wohle der Patienten aufgerufen werden. Denn nach mehr als einem Jahrzehnt intensiver Forschungs- und Entwicklungsarbeit an der eigentlichen Methodik sowie der Etablierung und Standardisierung individueller Testsysteme sind Nukleinsäure-gestützte Verfahren derzeit auf dem besten Wege, sich bei einigen diagnostischen Fragestellungen als “Goldstandard” zu etablieren. Auch wenn die definitive Festlegung von klinischen Indikationen für die Durchführung von erregerspezifischen NAT- bzw. PCR-Untersuchungen in vielen Bereichen noch umfangreicher Studien bedarf, sind mittlerweile für den gezielten Nachweis von nahezu allen bakteriellen, fungalen oder anderen eukaryonten Pathogenen eine Reihe kommerzieller Testsysteme und mehr oder weniger gut evaluierter selbst entwickelter (*in house*) Protokolle verfügbar.

Aus Sicht der einzelnen Fachgesellschaften sowie der jeweiligen Kostenträger werden die Indikationen für diagnostische PCR-Untersuchungen im Umfeld der Bakteriologie derzeit zum Teil noch sehr kontrovers diskutiert. Unumstritten ist bisher lediglich der Einsatz von NAT- bzw. PCR-Verfahren zum Nachweis von *Mycobacterium tuberculosis* (zeitnahe Bestätigung bzw. Ausschluss einer Tuberkulose beim mikroskopischen Nachweis von säurefesten Stäbchen im Untersuchungsmaterial) sowie zur Untersuchung von Urin oder geeignetem Abstrichmaterial bei klinischem Verdacht von *Chlamydia trachomatis* und/oder *Neisseria gonorrhoeae* Infektionen. Mit der systematischen Aufzeigung von sinnvollen Anwendungsgebieten (s. Tabellen 9.1 und 9.2) kann dieser Beitrag daher nur empfehlenden Charakter haben und, abgesehen von den drei zuvor erwähnten Ausnahmen, zum heutigen Zeitpunkt noch keine weiteren Indikationen für PCR-Untersuchungen definieren.

Wie bereits erwähnt sind Nukleinsäure-gestützte Untersuchungsverfahren unabhängig von einer erfolgreichen Anzucht und in der Regel wesentlich sensitiver als der Direktnachweis des Erregers im klinischen Untersuchungsmaterial mittels Mikroskopie oder Antigen-Nachweisverfahren.

Konsequenterweise sollten NAT- bzw. PCR-Verfahren daher vorzugsweise bei folgenden Kostellationen zur Anwendung kommen:

- zum Nachweis von nicht kultivierbaren, langsam wachsenden oder schwierig zu kultivierenden Erregern, wenn die gegebenenfalls vorliegenden serologischen

178 | 9 Indikationen für die molekulare Diagnostik – Bakterien, Pilze, Eukaryonten

Befunde nicht hinreichend aussagekräftig sind oder für bestimmte Erreger keine serologischen Nachweisverfahren verfügbar sind.

- wenn die für die konventionelle Diagnostik benötigte Zeitspanne in Anbetracht der klinischen Präsentation des Patienten zu lange dauern würde und im Falle eines positiven PCR-Nachweises unmittelbar spezifische Therapieoptionen zur Verfügung stehen.
- wenn der betreffende Patient bzw. potentielle Kontaktpatienten oder auch der behandelnde Arzt bzw. die Klinik von dem schnelleren und möglicherweise auch präziseren Befund einen direkten Nutzen hat.
- wenn der molekulare Nachweis von bekannten Resistenzgenen oder Pathogenitätsfaktoren die diagnostische Sicherheit bei unklaren phänotypischen Ergebnissen verbessern kann (z. B. *mecA* bei MRSA, *vanA* bis *E* bei VRE, *stx*₁, *stx*₂, *eae* und *hlyA* bei EHEC).

Tab. 9.1 (Fortsetzung folgende Seiten) Ausgewählte PCR-gestützte Protokolle zum Nachweis von relevanten humanpathogenen Bakterien, Pathogenitätsfaktoren und Antibiotikaresistenz-vermittelnden Genen

Erreger	Limitationen des konventionellen Erregernachweises	Literaturstelle	Zielsequenz	Sensitivität/PCR
<i>Bacillus anthracis</i>	Kultur unter L3-Bedingungen	Ellerbrook et al. (2002) FEMS Microbiol. Lett. 214:51–59	<i>rpoB</i> , <i>pagA</i> , <i>cnpC</i>	10 GE
<i>B. anthracis</i>	s. o.	Makino et al. (2001) Lett. Appl. Microbiol. 33: 237–240	<i>pagA</i> , <i>capB</i>	1 KBE
<i>Bartonella</i> species	Langsam wachsend, schlecht kultivierbar	Zeaiter et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 919–925	<i>ribC</i>	k.A.
<i>Bordetella pertussis</i> , <i>B. paraptussis</i>	Langsam wachsend, schlecht kultivierbar	Reischl et al. (2001) J. Clin. Microbiol. 39: 1963–1966	IS481, IS1001	0,1 KBE
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Langsam wachsend, kultureller Nachweis sehr aufwändig	Pahl et al. (1999), Piesman et al. (2001)	Flagellin	3 GE
<i>Borrelia</i> spp.	Langsam wachsend, kultureller Nachweis sehr aufwändig	Michel et al. (2003) Med. Microbiol. Immunol. 193:219–226.	<i>ospA</i>	5 GE
<i>Brucella</i> spp.	Kultur unter L3-Bedingungen, schwierige biochemische Differenzierung	Morata et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41:144–148	BCSP31	2 GE
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Nogva et al. (2000) Appl. Environ. Microbiol. 66: 4029–4036	Kryptische Sequenz	1 KBE

Erreger	Limitationen des konventionellen Erregernachweises	Literaturstelle	Zielsequenz	Sensitivität/PCR
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Kultur unter L3-Bedingungen, intrazellulär; kultureller Nachweis sehr aufwändig	Reischl et al. (2003) Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 22:54–57	16S rDNA	0,02 IFU
<i>C. pneumoniae</i>	s.o.	Apfalter et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 592–600	<i>ompA</i>	10 ⁻⁶ IFU
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Mikroskopie wenig sensitiv, Kultur unter L3-Bedingungen, intrazellulär; kultureller Nachweis sehr aufwändig	Van der Pol et al. (2001) J. Clin. Microbiol. 39:1008–1016	Kryptisches Plasmid	1 infizierte Zelle
<i>Clostridium difficile</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis von Toxingenen vorteilhaft	Belanger et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 730–734	<i>tcdA, tcdB</i>	10 GE
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Kultur unter L3-Bedingungen, spezielle Medien erforderlich	Mothershed et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 4713–4719	<i>toxA, toxB</i>	5–20 GE
Enterohaemorrhagische <i>Escherichia coli</i> (EHEC)	Kultur unter L3-Bedingungen	Reischl et al (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 2555–2565	Stx-1, Stx-2, <i>eae, hlyA</i>	1 KBE
<i>Francisella tularensis</i>	Kultur unter L3-Bedingungen	Emanuel et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 689–693	<i>fopA, tu14</i>	25 KBE
<i>Haemophilus influenzae</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Corless et al. (2001) J. Clin. Microbiol. 39: 1553–1558	<i>bexA</i>	k.A.
<i>Helicobacter pylori</i>	Kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	He et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 3720–3728	<i>ureC</i>	5 KBE
<i>H. pylori</i> Clarithromycin-Resistenz	Molekulare Resistenztestung schnell durchführbar	Oleastro et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 397–402	23S rDNA	5–10 GE
<i>Legionella pneumophila</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Wilson et al (2003) J. Clin. Microbiol. 41:3327–3330	<i>mip</i>	5–10 GE
<i>Legionella</i> spp.	s.o.	Wellinghausen et al. (2001) Appl. Environ. Microbiol. 67: 3985–3993	16S rDNA	5–10 GE
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Mikroskopie wenig sensitiv, langsam wachsend, Kultur unter L3-Bedingungen	Desjardin et al.(1998) J. Clin. Microbiol. 36: 1964–1968	IS6110	k.A.

180 | 9 Indikationen für die molekulare Diagnostik – Bakterien, Pilze, Eukaryonten

Erreger	Limitationen des konventionellen Erregernachweises	Literaturstelle	Zielsequenz	Sensitivität/PCR
<i>M. tuberculosis</i>	s. o.	Reischl et al. (1998) J. Clin. Microbiol. 36:2853–2860.	16S rDNA	10–20 GE
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Intrazellulär; kultureller Nachweis aufwändig	Deguchi et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 3854–3856	16S rDNA	10 GE
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Intrazellulär; kultureller Nachweis aufwändig	Welti et al. (2003) Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 45: 85–95	P1	10 GE
<i>Neisseria meningitidis</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Corless et al. (2001) J. Clin. Microbiol. 39: 1553–1558	<i>ctrA</i>	k.A.
<i>Staphylococcus aureus</i> , MRSA	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Reischl et al. (2000) J. Clin. Microbiol. 38: 2429–2433	Krypt. Sequenz <i>pSA422, mecA</i>	25 GE
MRSA	Molekularer <i>mecA</i> Gen-Nachweis bereits Goldstandard in der MRSA-Diagnostik	Fang et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 2894–2899	<i>nucA, mecA</i>	k.A.
<i>Streptococcus pyogenes</i> (A-Streptokokken)	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Uhl et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41: 242–249	Krypt. Sequenz	10 GE
<i>Streptococcus agalactiae</i> (B-Streptokokken)	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Ke et al. (2000) Clin. Chem 46: 324–331.	<i>cfb</i>	1 KBE
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Greiner et al. (2001) J. Clin. Microbiol. 39: 3129–3134	<i>ply</i>	1 KBE
<i>S. pneumoniae</i>	s. o.	McAvin et al. (2001) J. Clin. Microbiol. 39: 3446–3451	<i>lytA</i>	4 GE
<i>Tropheryma whipplei</i>	Routinemäßig nicht kultivierbar	Fenollar et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 1119–1120	16S rDNA, 23S rDNA, ITS, <i>rpoB</i>	k.A.
<i>Treponema pallidum</i>	Routinemäßig nicht kultivierbar	Burstain et al. (1991), J. Clin. Microbiol. 29:62–69	47-kDa Protein Gen	k.A.
Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft; phänotypischer Resistenz-Nachweis relativ aufwändig	Palladino et al. (2003) Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 45: 81–84	<i>vanA, vanB</i>	5–20 GE
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gut kultivierbar, aber PCR-Schnellnachweis vorteilhaft	Aarts et al. (2001) J. Microbiol. Methods. 47: 209–217	<i>bipA</i> , Krypt. Seq.	k.A.

Erreger	Limitationen des konventionellen Erregernachweises	Literaturstelle	Zielsequenz	Sensitivität/PCR
Kultur unter L3-Bedingungen	Tomaso et al. (2003) FEMS Immunol. Med. Microbiol. 38: 117–126	<i>pla</i> , <i>caf1</i> , <i>ymt</i> , 16S rDNA	0,1 GE	

Abkürzungen:

GE: Genomäquivalente; KBE: Koloniebildende Einheiten; k.A.: Keine Angaben in der entsprechenden Veröffentlichung

Tab. 9.2 (Fortsetzung folgende Seiten) Ausgewählte NAT- bzw. PCR-gestützte Protokolle zum Nachweis von relevanten humanpathogenen Pilzen, Parasiten und eukaryonten Infektionserregern.

Erreger	Vorteile PCR-gestützter Nachweisverfahren	Literaturstelle	Zielsequenz	Sensitivität/PCR
<i>Aspergillus</i> spp.	Spezifischer und sensibler Direktnachweis aus Blut bei Immunsupprimierten möglich	Hebart et al. (2000) JID 181:1713–1719	18S rDNA	1 KBE
<i>Candida</i> spp.	Spezifischer und sensibler Direktnachweis aus Blut bei Immunsupprimierten möglich	Löffler et al. (2000) J. Clin. Microbiol. 38:586–590	18S rDNA	1 KBE
<i>Coccidioides immitis</i>	Kultur unter L3-Bedingungen, PCR-Direktnachweis meist sensibler und spezifischer	Bialek et al (2004) J. Clin. Microbiol. 42: 778–783	Ag2/PRA Gen	1 GE
<i>Cryptococcus neoformans</i>	PCR-Direktnachweis meist sensibler und spezifischer	Bialek et al. (2002) Clin. Diagn. lab. Immunol., 9:461–469	18S rDNA	1 KBE
<i>Histoplasma capsulatum</i>	PCR-Direktnachweis meist sensibler und spezifischer	Bialek et al. (2002) J. Clin. Microbiol., 40:1644–1647	100-kDa-like Protein Gen	1 GE
<i>Pneumocystis carinii</i>	PCR-Direktnachweis meist sensibler und spezifischer; Quantitative PCR sinnvoll	Larsen et al (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 490–494	MSG Gen	1 GE

Erreger	Vorteile PCR-gestützter Nachweisverfahren	Literaturstelle	Zielsequenz	Sensitivität/PCR
<i>Cryptosporidium</i> spp.	PCR-Direktnachweis meist sensitiver und spezifischer	Limor et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 2335–2338	16S rDNA	5 GE
<i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Entamoeba dispar</i>	PCR-Direktnachweis meist sensitiver und spezifischer; Speziesdifferenzierung möglich	Blessmann et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 40:4413–4417	18S rDNA	0,1 GE
<i>Plasmodium</i> spp.	PCR-Direktnachweis meist sensitiver und spezifischer	Lee et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 4343–4345	16S rDNA	1 GE
<i>Leishmania</i> spp.	PCR-Direktnachweis meist sensitiver und spezifischer	Nicolas et al. (2002) J. Clin. Microbiol. 40: 1666–1669	kDNA (Kinetoplast)	0,1 GE
<i>Toxoplasma gondii</i>	PCR-Direktnachweis meist sensitiver und spezifischer; Quantitative PCR sinnvoll	Reischl et al. (2003) BMC Infect. Dis. 3:7	Kryptische Multicopy Sequenz	0,02 GE
<i>Trypanosoma cruzii</i>	PCR-Direktnachweis meist sensitiver und spezifischer	Cummings et al. (2003) Mol. Biochem. Parasitol. 129: 53–59	Kryptische Multicopy Sequenz	0,01 GE

Verwendete Abkürzungen:
 GE: Genomäquivalente; KBE: Koloniebildende Einheiten

Für die in den beiden Tabellen aufgeführten Erreger stehen in der Regel qualitative NAT- bzw. PCR-Nachweissysteme zur Verfügung. Bei der Anforderung von methodisch und experimentell aufwändigeren quantitativen Untersuchungsverfahren ist generell zu beachten, dass deren Durchführung nur dann sinnvoll ist, wenn das zu untersuchende Probenmaterial auch annähernd reproduzierbar in quantitativer Weise gewonnen werden kann.

Aufgrund der enorm hohen analytischen Sensitivität dieser Nachweisverfahren und der relativ hohen Stabilität von genomischer DNA ist der Einsatz von NAT- bzw. PCR-Protokollen zum Zwecke eines "Therapiemonitorings" bzw. der Erfolgskontrolle einer Behandlung mit antibakteriellen oder antifungalen Medikamenten nicht zu empfehlen. Denn auch nach erfolgreicher Behandlung der Infektion können einzelne Nukleinsäurefragmente der entsprechenden Erreger unter Umständen noch über Wochen bis Jahre hinweg in dem entsprechenden Untersuchungsmaterial nachweisbar sein.

Abhängig von der jeweiligen Organisation sowie der technischen und personellen Strukturierung des diagnostischen Laboratoriums kann auch, gewissermaßen indirekt, eine Indikation für die Durchführung von NAT- bzw. PCR-gestützten

Nachweisverfahren gegeben sein, wenn diese bei zumindest vergleichbarer diagnostischer Sensitivität und Spezifität mit geringerem Arbeits- und/oder Materialaufwand als konventionelle Verfahren verbunden sind. Unter optimalen Voraussetzungen kann beispielsweise ein PCR-Nachweis von A-Streptokokken in kürzerer Zeit und mit geringerem Kostenaufwand als der entsprechende konventionelle Nachweis über die Kombination aus Antigen-Schnelltest und Kultur durchgeführt werden. Ambulante Patienten mit Pharyngitis können zudem von dem schnellen Ergebnis unmittelbar profitieren.

Mit der Verfügbarkeit von erregerspezifischen NAT- bzw. PCR-gestützten Nachweisverfahren können für bestimmte Fragestellungen auch nichtinvasiv gewonnene Probenmaterialien eingesetzt werden. So ist für den erfolgreichen Kultur-Nachweis von *Bordetella pertussis* (Sensitivität ~ 50%) beispielsweise die Gewinnung eines nasopharyngealen Abstrichs erforderlich. Für entsprechende PCR-Verfahren (Sensitivität >90%) bedarf es dagegen lediglich eines Rachenabstrichs, der sehr viel einfacher zu gewinnen und auch für den Patienten weniger belastend ist.

Die letztgenannten Aspekte sollen lediglich einen Eindruck davon vermitteln, dass es nicht für alle klinischen Konstellationen möglich sein wird, klare Indikationsstellungen zu definieren. Letztendlich kann die Entscheidung für oder gegen die Durchführung von Nukleinsäure-gestützten Untersuchungsverfahren im Einzelfall nur durch sorgfältige Abwägung und in möglichst genauer Kenntnis der Vor- und Nachteile der jeweils vor Ort etablierten und verfügbaren Nachweisverfahren erfolgen.

