

Genomische Multiplex-Amplifikation oder syndromische Diagnostik: bereit für die Klinik ?

F. Bally, A. Dumoulin, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

Die Fortschritte der molekularbiologischen Diagnostik (MBD) auf der Basis des Nachweises von DNA oder RNA eines Infektionserregers ermöglichen den gleichzeitigen Nachweis von rund zwanzig Pathogenen in einer einzigen Probe. Diese Techniken, auch Multiplex-PCR genannt, gelangen insbesondere für die Diagnose der Atemwegsinfektionen oder der Gastroenteritiden zur Anwendung. Andere Beispiele sind die Diagnose der sexuell übertragbaren Infektionen, der Meningitis und der Pneumonien. Damit das Ergebnis für den Kliniker und den Patienten von Nutzen ist, muss es rasch verfügbar sein, im klinischen Kontext interpretiert werden können und eine Auswirkung haben, im Idealfall eine Behandlung oder zumindest eine Diagnose, mit der andere Untersuchungen vermieden werden können. Der Nutzen dieser Methoden muss mit ihren Kosten, die gegenwärtig kaum reglementiert und oft sehr hoch sind, sowie mit dem Risiko von Ergebnissen ohne klinische Relevanz in Zusammenhang gebracht werden. [1]

Darminfektionen

Die Diagnose der Darminfektionen beruht auf einer Vielzahl von Techniken (Tabelle 1), welche die Kultur, die direkte Untersuchung durch Mikroskopie, die Molekularmethoden oder die serologischen Techniken einschliessen. Abgesehen davon, dass diese Reihe von Tests schwierig zu automatisieren ist, verursacht sie auch hohe kombinierte Kosten. Die direkte Untersuchung durch Mikroskopie, die aus dem 19. Jahrhundert stammt und seither nur geringfügig verändert worden ist, weist im Vergleich zur genomischen Amplifikation eine geringere Sensibilität auf und hat auch andere Nachteile. Die Kultur ihrerseits ist zwar praktisch gleich sensibel wie die MBD, ermöglicht aber nicht die Unterscheidung zwischen den kommensalen *E. coli* und den pathogenen Stämmen, insbesondere ETEC und EHEC.

	Vorteile	Nachteile
Mikroskopie	Schnell	Geringere Sensibilität Anspruchsvoll (Erfahrung nötig) und nicht automatisierbar Weist apathogene, morphologisch identische oder ähnliche Amöben nach (zum Beispiel: <i>Entamoeba dispar</i>)
Kultur	Sensibel Polyvalent (weist sämtliche kultivierbaren Agentien nach)	Ergebnis erst nach 24 bis 48 Stunden
Serologie	Schnell	Sensibilität hängt von der Phase der Krankheit ab (Problem des serologischen Fensters)
Molekularbiologische Diagnostik	Schnell Sensibel Spezifisch	Unterscheidet eine Infektion nicht von einem einfachen Trägertum. Weist nur die Krankheitserreger im gewählten Panel nach. Kein Antibiotogramm. Oft hohe Kosten.

Tabelle 1 : Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden

Die Methoden der MBD verfügen im Allgemeinen über eine sehr hohe Sensibilität, die häufiger den Nachweis eines Krankheitserregers ermöglicht, wie zum Beispiel im Fall des Nachweises von *Giardia duodenalis*, bei dem die Molekularmethoden dreimal sensibler sind, als die traditionellen Methoden.[2] Diese Sensibilität kann sich jedoch in gewissen Fällen als Nachteil erweisen, denn sie ermöglicht nicht die Unterscheidung zwischen einem pathogenen Agens, das Symptome hervorruft, und einem vorhandenen, aber inaktiven (kolonisierenden) Agens. Dies erklärt teilweise die vom BAG festgestellte Meldungszunahme von enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC), obwohl die Krankheitsfälle (z.B. hämolytisch-urämisches Syndrom) nicht zunehmen.[3]

Für akute Gastroenteritiden mit einer Dauer von weniger als 7 Tagen, ohne Fieber und ohne Blut im Stuhl (mit symptomatischer Behandlung), wird keine Untersuchung empfohlen.[4] Im Fall von Fieber oder Blut im Stuhl, bleibt die klassische Stuhlkultur oder eine Methode der Molekularbiologie, welche nur die häufigsten enteropathogenen Bakterien nachweist (Tabelle 2), die Methode der Wahl, falls keine Reise unternommen wurde und keine Immunsuppression vorliegt. Bei einer kürzlichen Antibiotika-Therapie kann eine Suche nach *C. difficile* indiziert sein. Der Norovirus-Nachweis wird nur für eine Untersuchung bei Epidemien von Gastroenteritiden in Institutionen empfohlen.

Bei Reiserückkehrern oder bei anhaltendem Durchfall, ist das Spektrum der Krankheitserreger breiter.[5] Für Patienten mit Immunsuppression drängt sich die Suche nach besonderen Krankheitserregern auf (Tabelle 2), wodurch die MBD sogar als erste Wahl interessant wird. Bei Durchfall, der länger als 3 Wochen anhält, werden die MBD und eine spezialisierte Untersuchung empfohlen, um nach Krankheiten zu suchen wie entzündliche Enteropathie, Malabsorption, Zöliakie, Pankreasinsuffizienz, Lebensmittelintoleranz, Hyperthyroidie, usw.

Atemwegsinfektionen

Die Multiplex-MBD ist nicht zweckmässig bei Patienten in gutem Gesundheitszustand, die den Hausarzt mit einer Infektion der oberen oder der unteren Atemwege aufsuchen. Von allen gängigen Infektionen mit Viren der Atemwege ist die Grippe diejenige, welche am meisten Komplikationen verursacht, aber auch die einzige ist, die behandelt werden kann. Während der saisonalen Grippeperiode sollten sich die diagnostischen Tests bei den hospitalisierten Patienten auf die Suche nach dem Influenzavirus beschränken, sofern die Symptome erst vor kurzem aufgetreten sind (Nutzen der Behandlung beim hospitalisierten Patienten, falls < 5 Tage). Bei ambulanten Patienten mit Komplikationsrisiko (schwängere Frauen, ältere Menschen oder Personen mit chronischen Krankheiten) kann die Suche nach den Influenzaviren A und B zweckmässig sein, wenn die Symptome erst vor kurzem aufgetreten sind (Nutzen der Behandlung, falls < 48 Std.). Bis das Ergebnis vorliegt, wird eine empirische Behandlung empfohlen (Osetamivir).

Die Suche nach anderen Viren der Atemwege (Parainfluenza, RSV, usw.) kann in besonderen Fällen gerechtfertigt sein, insbesondere bei schwerwiegenden Infektionen bei immunsupprimierten Patienten, welche eine Intensivpflege benötigen. Bei hospitalisierten Kindern ermöglicht die Diagnose des Respiratorischen-Synzytial-Virus (RSV) Isolationsmassnahmen, mit denen die nosokomiale Übertragung eingeschränkt werden kann.

Bei einer Pneumonie werden die Kultur des Sputums und die Hämokultur nur für hospitalisierte Patienten diskutiert und immer in Kombination mit der Suche nach den Urinantigenen von *Legionella* und *Streptococcus pneumoniae*. Der Einsatz der MBD für die Diagnose der Pneumonien ist vielversprechend. Dieser Ansatz muss jedoch noch bestätigt werden.[6]

Syndrome	Verordnungsempfehlungen der Tests	In erster Wahl zu suchende Krankheitserreger	Weitere Schritte
Darminfektionen	Keine Untersuchung bei Durchfall von weniger als 7 Tagen ohne Fieber und Blut im Stuhl.	<i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> durch Kultur oder PCR	Rückkehr von Reise: Pathogene <i>E. coli</i> (ETEC, EPEC, EAEC, EHEC), <i>Yersinia</i> , <i>Vibrio</i> <i>Amöben</i> , <i>Giardia</i> , <i>Cryptosporidium</i> Besondere Fälle: <i>Vibrio</i> , <i>Strongyloides</i> , Würmer, <i>Dientamoeba fragilis</i> , <i>Isospora belli</i> Immunsupprimierte Patienten: <i>Yersinia</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Microsporidium</i> , <i>Blastocystis hominis</i> , <i>Isospora belli</i> , <i>Cyclospora</i>
Atemwegsinfektionen	Ambulanter Patient: keine Untersuchung		Patienten mit Komplikationsrisiko oder hospitalisiert: PCR Influenza Immunsupprimierte Patienten: Multiplex-Panel für resp. Viren

Tabelle 2 : empfohlene Tests für die häufigen Syndrome in der ambulanten Medizin

Schlussfolgerungen

Die molekularbiologischen Analysepanels (Multiplex-PCR) haben den Vorteil, mit einer einzigen Entnahme ein breites Spektrum von Krankheitserregern nachweisen zu können. Diese Panels dürfen jedoch nur in ausgewählten Fällen, anhand der Klinik und der Umstände (z.B. Schweregrad, Reise, Immunsuppression), angewandt werden. Der Kliniker muss sich beim Auftrag dieser Tests der Tatsache bewusst sein, dass er mit unerwarteten Ergebnissen konfrontiert sein könnte, deren Interpretation komplex sein könnte. In gewissen Fällen sind Bestätigungstests notwendig. Wenn diese Diagnoseinstrumente auf rationale Art eingesetzt werden, können sie jedoch eine wertvolle Hilfe darstellen.

Literatur

- [1] Schrenzel J. White paper on molecular diagnostic panels in microbiology. *Pipette*. 2019(1):21-2.
- [2] Stensvold CR, Nielsen HV. Comparison of Microscopy and PCR for Detection of Intestinal Parasites in Danish Patients Supports an Incentive for Molecular Screening Platforms. *J. Clin. Microbiol.* 2012 Feb;50(2):540-1.
- [3] Augmentation inattendue du nombre de déclarations d'infections à *E. coli* entéro-hémorragique ces derniers mois en Suisse. *Bull OFSP*. 2015(52):987-9.
- [4] Bellini C, Dumoulin A. Prise en charge ambulatoire de la diarrhée aiguë. *Rev. Med. Suisse*. 2018 Oct 10;14(622):1790-4.
- [5] Gétaz L, Chappuis F, Loutan L. Parasitoses intestinales et hépatiques : diagnostic et traitement. *Rev. Med. Suisse*. 2007 May 16;3(111):1254-8.
- [6] Gadsby NJ, Russell CD, McHugh MP, Mark H, Morris AC, Laurensen IF, et al. Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 2016 Apr 1;62(7):817-23

Kontaktpersonen

Dr. med. Frank Bally
Dr. Alexis Dumoulin

frank.bally@hopitalvs.ch
alexis.dumoulin@hopitalvs.ch