

SCHNELLER, HÖHER, WEITER – NEUE WEGE IN DER REAL-TIME PCR DIAGNOSTIK

B. Hoffmann

Die real-time PCR Technologie hat sich in den letzten Jahren als Standardmethode im molekularen Diagnostiklabor etabliert. Für sehr viele Pathogene sind real-time PCR Assays publiziert und die in-house Entwicklung eigener Systeme, basierend auf vorhandenen Sequenzinformationen, ist meist unkompliziert möglich. Auch die Vielfältigkeit der am Markt befindlichen real-time PCR Maschinen, geringe Kosten für Primer und Sonden sowie die Nutzerfreundlichkeit der universellen PCR Kits machen die Entwicklung, Etablierung und Validierung von real-time PCR Assays zu einem einfachen Verfahren im molekulardiagnostischen Labor. Allerdings führt diese einfache Anwendung und Auswertung der real-time PCR auch zu einem starken Anstieg der getesteten Probenzahlen. Kein diagnostisches Labor würde diese Analysezahlen bei der Anwendung der gel-basierten Detektion erreichen. Neben dieser steigenden Anzahl von real-time PCR Analysen im Rahmen der täglichen Diagnostik wird auch ein immer höherer Aufwand für die Validierung von PCR-Systemen von den zuständigen Stellen eingefordert.

Zur Bewältigung dieser neuen Anforderungen wurden und werden am Nationalen Referenzlabor für Blauzungenkrankheit ständig neue Erfahrungen zum optimierten Einsatz der real-time PCR im Diagnostikalltag generiert. Die multiplex real-time PCR kann verschiedene diagnostische Fragen in einem PCR-Ansatz beantworten. Allerdings ist die Validierung und Anpassung entsprechender Systeme sehr kosten- und zeitaufwendig. Durch parallele Testung verschiedener Pathogene in mehreren Wells kann dieser Aufwand minimiert werden. Durch den Einsatz von 384er PCR-Plattenformate mit 5 bis 12,5 µl Gesamtvolumen werden höhere Durchsatzraten bei vertretbaren Kosten erzielt. Gerätetechnische Voraussetzungen und die Möglichkeiten des Einsatzes von kostengünstigen real-time PCR Kits werden angesprochen und diskutiert. Darüber hinaus werden Ergebnisse zur Einführung schnellerer PCR-Laufzeiten für die Routinediagnostik aber auch zur high-speed RT-qPCR im Rahmen der Entwicklung von molekularen pen-side Tests vorgestellt.

Im Zuge der differentialdiagnostischen Abklärung erkrankter Tiere erreichen das NRL-BT regelmäßig Proben, die auf eine Vielzahl von verschiedenen Erregern getestet werden sollen. Neben den Untersuchungen auf die anzeigepflichtigen Erreger werden auch weitere Analysen gewünscht, welche die Klinik im Bestand aufklären können. Diese Probenzahlen sind zu hoch, dass sie aktuell alle mittels *next generation sequencing* abgeklärt werden können. Entwicklungen von real-time PCR-Verfahren, die helfen können die Lücke zwischen spezifischen TaqMan-PCRs und Metagenom-Analyse mittels NGS zu schließen, werden präsentiert.

Höhere Durchsatzraten, schnellere Laufzeiten und eine weiter steigende diagnostische Breite der real-time PCR Systeme sind neuere Entwicklungen auf dem Gebiet der real-time PCR, die zeigen, dass immer noch viel Potential in dieser Routinemethode steckt.

Korrespondenzadresse

Dr. Bernd Hoffmann
Institut für Virusdiagnostik
Friedrich-Loeffler-Institut, Südufer 10
17493 Greifswald-Insel Riems
E-Mail: bernd.hoffmann@fli.bund.de



Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.
German Veterinary Medical Society

Herzlich willkommen

zur 33. Arbeits- und Fortbildungstagung der DVG-Fachgruppe AVID Veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik

Vorstand: B. Hoffmann, M. Hoferer, P. Kutzer, C. Werckenthin,
A. Moss

Wir wünschen Ihnen viel Erfolg
und einen angenehmen Tagungsverlauf!

Im Namen des Vorstands

Dr. Bernd Hoffmann

Dr. Marc Hoferer

Bad Staffelstein / Kloster Banz, 17. bis 19. September 2014

Verlag der
DVG Service GmbH
Friedrichstr. 17, 35392 Gießen
Tel.: 0641-24466 · Fax: 0641-25375
E-Mail: info@dvg.de · Homepage: www.dvg.de