
Leistungsverzeichnis des molekularpathologischen Labors



Institut für Pathologie

Stand Februar 2016



Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeines	3
<u>Untersuchungen zur Überprüfung des Genstatus</u>		
2	KRAS-Genstatusüberprüfung.....	4
3	NRAS-Genstatusüberprüfung	5
4	BRAF-Genstatusüberprüfung.....	6
5	EGFR-Genstatusüberprüfung.....	7
6	GIST-Genstatusüberprüfung.....	8
7	MDM2 FISH.....	9
8	EML4-ALK FISH.....	10
9	Her-2/neu FISH	11
10	p16 FISH	12
11	FGFR-1 FISH	13
12	ROS-1 FISH	14
13	cMET FISH	15
<u>Erregernachweise</u>		
14	Subtypisierung Mycobakterien und M. tuberculosis complex.....	16
15	Subtypisierung humane Papillomviren (HPV)	17
16	Nachweis respiratorische Viren.....	18
17	Nachweis neurotrope Viren.....	19
18	Einzelnachweis von Herpesviren	20
19	Nachweis von Polyomaviren.....	21
20	Nachweis von P. jirovecii	22
21	Quantitativer Nachweis von humanem Metapneumovirus (hMPV) und humanem Bocavirus (hBoV).....	23
22	Nachweis von Aspergillus Galaktomanan.....	24
23	Panfungale/ panbakterielle PCR	25
24	uPA/PAI-1.....	26



1 Allgemeines

1.1 Dienstzeiten

Institut für Pathologie:	Werktags	8:00 – 16:00 Uhr
Molekularbiologisches Labor:	Werktags	8:00 – 16:00 Uhr

1.2 Auskunft

<u>Befundauskunft:</u>	0221-8907 3280	Chefsekretariat
	0221-8907 3281	Schreibbüro
	0221-8907 3539	Schreibbüro
<u>Auskunft zu Untersuchungsmethoden:</u>	0221-8907 13467	Prof. O. Schildgen
	0221-8907 18887	Dr. V. Schildgen
	0221-8907 18911	Dr. J. Lüsebrink
	0221-8907 18912	BTA-Büro

1.3 Anforderung/ Probeneinsendung

Die Anforderung von Untersuchungen durch das molekularpathologische Labor erfolgt über den Anforderungsschein der Pathologie. Proben werden mit einem eindeutig ausgefüllten Pathologie-Anforderungsschein an das Institut für Pathologie versandt. Proben können nicht bearbeitet werden, wenn die Zuordnung von Probe und Anforderungsschein durch fehlende Beschriftung/Aufkleber nicht erfolgen kann.

Erregernachweise werden nur nach pathologischer und/oder zytologischer Untersuchung und vorheriger Indikationsstellung durch einen Pathologen aus dem der Pathologie übersandten Material oder konsiliarisch durchgeführt.

1.4 Untersuchungsdauer

Die Untersuchungsdauer liegt bei den Genstatus-Überprüfungen im Allgemeinen bei 1 Woche. Die Untersuchungen zum Erregernachweis werden je nach Probenaufkommen 1 bis 2 mal wöchentlich durchgeführt. In dringenden Notfällen kann der Erregernachweis nach Rücksprache zeitnah zur Probeneinsendung durchgeführt werden.

1.5 Befundung

Die Befundung der vom Labor ermittelten Ergebnisse erfolgt über die zuständigen Pathologen. Wichtige Befunde werden vorab entweder telefonisch oder über einen schriftlichen Vorbefund mitgeteilt.

Die Datenübermittlung an das KIS erfolgt durchgehend während der Arbeitszeiten des Instituts für Pathologie

Das Laborpersonal ist nicht autorisiert, Informationen über laufende Untersuchungen an Dritte weiterzuleiten. Befundauskünfte können nur über das Sekretariat des Instituts für Pathologie erfragt werden.



Untersuchungen zur Überprüfung des Genstatus

2 KRAS-Genstatusüberprüfung

2.1 Analyt

Codons 12, 13, 59, 61, 117 und 146 des humanen KRAS Gens.

Das *KRAS*-Gen (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) kodiert für das gleichnamige Protein KRAS, welches Wachstumssignale vom *epidermal growth factor receptor* (EGFR) weiterleitet. Mutationen im KRAS-Onkogen können zu einer Daueraktivierung dieses Signalwegs führen und so zur Krebsentstehung beitragen. Die Untersuchung des Mutationsstatus unterstützt den behandelnden Arzt bei der Auswahl der Therapie von der Patienten am ehesten profitieren.

2.2 Methode

PCR-Amplifikation und anschließende Analyse mittels Pyrosequenzierung.

2.3 Beschreibung der Untersuchung

Es werden die Codons 12, 13, 59, 61, 117 und 146 des humanen KRAS Gens auf das Vorhandensein von Mutationen überprüft. Nach einer Gen-spezifischen PCR wird das PCR-Amplifikat mittels Pyrosequenzierung analysiert. Ist eine Mutation im untersuchten Codon vorhanden, ist dies an Hand eines veränderten Kurvenverlaufs im Pyrogramm zu erkennen. Die Überprüfung des Mutationsstatus soll Ärzte bei der Auswahl von Patienten, die am wahrscheinlichsten von einer Chemotherapie profitieren, unterstützen.

2.4 Untersuchungsmaterial

Tumorgewebe, in Paraffin eingebettet oder Frischmaterial

2.5 Untersuchungsmenge

Mindestens ein Gewebeschnitt (15 µm) von eingebettetem Gewebe

2.6 Befundung/Beurteilung

Mutation im KRAS Gen

Keine Mutation im KRAS Gen



3 NRAS-Genstatusüberprüfung

3.1 Analyt

Codons 12, 13, 59, 61, 117 und 146 des humanen NRAS Gens.

NRAS (*neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog*) gehört wie KRAS zur RAS-Familie und spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung der Zellteilung. Mutationen im NRAS-Onkogen können zu einer Daueraktivierung dieses Signalwegs führen und so zur Krebsentstehung beitragen. Die Untersuchung des Mutationsstatus unterstützt den behandelnden Arzt bei der Auswahl der Therapie von der Patienten am ehesten profitieren.

3.2 Methode

PCR-Amplifikation und anschließende Analyse mittels Pyrosequenzierung.

3.3 Beschreibung der Untersuchung

Es werden die Codons 12, 13, 59, 61, 117 und 146 des humanen NRAS Gens auf das Vorhandensein von Mutationen überprüft. Nach einer Gen-spezifischen PCR wird das PCR-Amplifikat mittels Pyrosequenzierung analysiert. Ist eine Mutation im untersuchten Codon vorhanden, ist dies an Hand eines veränderten Kurvenverlaufs im Pyrogramm zu erkennen. Die Überprüfung des Mutationsstatus soll Ärzte bei der Auswahl von Patienten, die am wahrscheinlichsten von einer Chemotherapie profitieren, unterstützen.

3.4 Untersuchungsmaterial

Tumorgewebe, in Paraffin eingebettet oder Frischmaterial

3.5 Untersuchungsmenge

Mindestens ein Gewebeschnitt (15 µm) von eingebettetem Gewebe

3.6 Befundung/Beurteilung

Mutation im NRAS Gen

Keine Mutation im NRAS Gen



4 BRAF-Genstatusüberprüfung

4.1 Analyt

Codons 464, 466, 469 und 600 des humanen BRAF Gens.

Das BRAF-Gen („proto-oncogene B-Raf“ oder „v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1“) kodiert für das Protein Serine/Threonin-Protein Kinase B-Raf, welches bei der Regulation des MAPK/ERK Signalwegs eine Rolle spielt und u.a. Zellteilung und Differenzierung beeinflusst. Mutationen im BRAF-Gen können zu einer Daueraktivierung dieses Signalwegs führen und so zur Krebsentstehung beitragen. Generell sind Mutationen im BRAF Gen bei verschiedenen Tumoren beschrieben worden. Neuerdings sind spezifische BRAF-Inhibitoren als Medikamente gegen Tumore mit nachgewiesener BRAF-V600 Mutation in klinischer Erprobung. So konnte kürzlich in einer Studie zum malignen Melanom gezeigt werden, dass spezifische BRAF-Inhibitoren die Überlebenszeit beim malignen Melanom signifikant verlängern können.

4.2 Methode

PCR-Amplifikation und anschließende Analyse mittels Pyrosequenzierung.

4.3 Beschreibung der Untersuchung

Es werden die Codons 464,466,469 und 600 des humanen BRAF Gens auf das Vorhandensein von Mutationen überprüft. Nach einer Gen-spezifischen PCR wird das PCR-Amplifikat mittels Pyrosequenzierung analysiert. Ist eine Mutation im untersuchten Codon vorhanden, ist dies an Hand eines veränderten Kurvenverlaufs im Pyrogramm zu erkennen. Die Überprüfung des Mutationsstatus soll Ärzte bei der Auswahl von Patienten, die am wahrscheinlichsten von einer Chemotherapie profitieren, unterstützen.

4.4 Untersuchungsmaterial

Tumorgewebe, in Paraffin eingebettet oder Frischmaterial

4.5 Untersuchungsmenge

Mindestens ein Gewebeschnitt (15 µm) von eingebettetem Gewebe

4.6 Befundung/Beurteilung

Mutation im BRAF Gen

Keine Mutation im BRAF Gen



5 EGFR-Genstatusüberprüfung

5.1 Analyt

Codons 719, 768, 790, 858 und 861 und Exon 19 des humanen EGFR Gens.

Der Epidermale Growth-Factor Receptor (EGFR) spielt eine wichtige Rolle bei der Steuerung von Zellwachstum und programmiertem Zelltod. In verschiedenen Tumoren ist der Rezeptor hochreguliert oder mutiert, was zu einem unkontrollierten Wachstum der Tumorzellen führt. Moderne Tumorthérapien blockieren die Signale des EGFR und stören dadurch das Tumorstwachstum. Dabei ist die Überprüfung des Genstatus wichtig, da z.B. bestimmte Mutationen in der Tyrosinkinase und der ATP-bindenden Domäne des EGFR-Gens Voraussetzungen für die Wirksamkeit einer Tyrosinkinaseinhibitor-Therapie sind.

5.2 Methode

PCR-Amplifikation und anschließende Analyse mittels Pyrosequenzierung.

5.3 Beschreibung der Untersuchung

Es wird auf das Vorhandensein von Mutationen in den Codons 719, 768, 790, 858 und 861 sowie Deletionen im Exon 19 des humanen EGFR Gens geprüft. Nach einer Gen-spezifischen PCR wird das PCR-Amplifikat mittels Pyrosequenzierung analysiert. Ist eine Mutation im untersuchten Codon vorhanden, ist dies an Hand eines veränderten Kurvenverlaufs im Pyrogramm zu erkennen. Die Überprüfung des Mutationsstatus soll Ärzte bei der Auswahl von Patienten, die am wahrscheinlichsten von einer Chemotherapie profitieren, unterstützen.

5.4 Untersuchungsmaterial

Tumorgewebe, in Paraffin eingebettet oder Frischmaterial

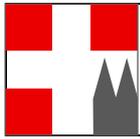
5.5 Untersuchungsmenge

Mindestens ein Gewebeschnitt (15 µm) von eingebettetem Gewebe

5.6 Befundung/Beurteilung

Mutation im EGFR Gen

Keine Mutation im EGFR Gen



6 GIST-Genstatusüberprüfung

6.1 Analyt

Exon 9 des humanen KIT Gens und Exon 18 des humanen PDGFRA Gens.

Der gastrointestinale Stromatumor (GIST) ist ein seltenes bösartiges Sarkom des Magen-Darm-Traktes. Ein Großteil der GIST weisen Mutationen im KIT-Gen (CD117) auf, ein geringer Anteil zeigt eine Mutation des *Plattetet derived growth factor A* (PDGFRA). Die Überprüfung des Genstatus der beiden Gene spielt neben der prognostischen Relevanz eine wichtige Rolle für das zu erwartende Therapieansprechen auf die Behandlung mit Tyrosinkinase-Inhibitoren.

6.2 Methode

PCR-Amplifikation und anschließende Analyse mittels Pyrosequenzierung.

6.3 Beschreibung der Untersuchung

Bestimmung des Mutationsstatus im Exon 9 des humanen KIT-Gens sowie im Exon 18 des humanen PDGFRA-Gens bei Patienten mit diagnostiziertem gastro-intestinalen Stromatumor (GIST). Nach einer Gen-spezifischen PCR wird das PCR-Amplifikat mittels Pyrosequenzierung analysiert. Ist eine Mutation im untersuchten Codon vorhanden, ist dies an Hand eines veränderten Kurvenverlaufs im Pyrogramm zu erkennen. Die Überprüfung des Mutationsstatus soll Ärzte bei der Auswahl von Patienten, die am wahrscheinlichsten von einer Chemotherapie profitieren, unterstützen.

6.4 Untersuchungsmaterial

Tumorgewebe, in Paraffin eingebettet oder Frischmaterial

6.5 Untersuchungsmenge

Mindestens ein Gewebeschnitt (15 µm) von eingebettetem Gewebe.

6.6 Befundung/Beurteilung

Mutation im KIT/PDGFRA Gen

Keine Mutation im KIT/PDGFRA Gen



7 MDM2 FISH

7.1 Analyt

MDM2-Gen.

Das Liposarkom ist ein seltener bösartiger Tumor des Weichteilgewebes (Sarkom), der feingewebliche Merkmale von Fettzellen oder Fettzellvorstufen aufweist. Mit einem Anteil von 16–18 % ist das Liposarkom nach dem malignen fibrösen Histiocyten das zweithäufigste Weichteilsarkom. Genetische Veränderungen sind häufig und betreffen unter anderem eine Region auf dem langen Arm des Chromosoms 12 (12q13-15) mit Amplifikation des MDM2-Gens (murine double minute oncogene) und des für die Cyclin-abhängige Kinase 4 codierenden Gens CDK4. Die damit einhergehende Überexpression der entsprechenden Gene kann auf RNA- und Proteinebene nachgewiesen werden und unter Umständen zur Abgrenzung sowohl gegenüber gutartigen Lipomen als auch anderen Weichteilsarkomen beitragen.

7.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

7.3 Beschreibung der Untersuchung

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Duplexbildung (mit Sequenzen der chromosomalen Region des MDM2-Gens und der alpha-Satelliten von Chromosom 12 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

7.4 Untersuchungsmaterial

FFPE-Tumormaterial

7.5 Untersuchungsmenge

1 Gewebeschnitt mit einer Schnittdicke von 3-5 µm. Es müssen mindestens 20 zusammenhängende Zellen des invasiven Tumorbereichs mit amplifizierten Signalen gezählt werden können.

7.6 Befundung/Beurteilung

Amplifiziert

Nicht amplifiziert



8 EML4-ALK FISH

8.1 Analyt

ALK-Gen. Translokationen mit Beteiligung des ALK-Gens sind bei verschiedenen Tumoren von großer Bedeutung.

8.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

8.3 Beschreibung der Untersuchung

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Duplexbildung (mit Sequenzen der chromosomalen Regionen 2p21 und 2p23 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

8.4 Untersuchungsmaterial

FFPE-Tumormaterial

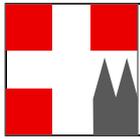
8.5 Untersuchungsmenge

1 Gewebeschnitt mit einer Schnittdicke von 3-5 µm. Es müssen mindestens 100 Zellen gezählt werden können.

8.6 Befundung/Beurteilung

Translokation

Keine Translokation



9 Her-2/neu FISH

9.1 Analyt

Her2/neu (human epidermal growth factor receptor 2, erb-B2, c-erbB2) gehört zur Familie der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren (EGF-Rezeptor). HER2/neu stimuliert die Zellproliferation über den RAS-MAP-Kinase-Weg und hemmt den programmierten Zelltod (Apoptose) über den mTOR-Signalweg. Her2/neu spielt eine wichtige Rolle in der Behandlung und Diagnostik des Mammakarzinoms (Brustkrebses). In etwa 20 % aller invasiven Mammakarzinome ist der Rezeptor stark überexprimiert. Damit ist seine Wirkung vervielfacht, was sich in einer schlechten Überlebensprognose, beziehungsweise einem vergleichsweise schlechteren Krankheitsverlauf, äußert. Ob der Krankheitsverlauf durch eine Her2/neu-Überexpression beeinflusst ist, kann mittels immunhistochemischer Methoden nachgewiesen werden. Die Feststellung der nachgewiesenen Überexpression wird mit „HER2-positiv“ bezeichnet.

9.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

9.3 Beschreibung der Untersuchung

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsmaterial vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Die Duplexbildung (mit Sequenzen des ERBB2-Gens und der alpha-Satelliten von Chromosom 17) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

9.4 Untersuchungsmaterial

FFPE Tumorgewebe

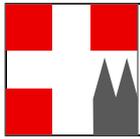
9.5 Untersuchungsmenge

Ein Gewebeschnitt mit einer Schnittdicke von 3-5 µm. Es müssen mindestens 20 zusammenhängende Zellen des invasiven Tumorbereichs mit amplifizierten Signalen gezählt werden können.

9.6 Befundung/Beurteilung

Amplifiziert

Nicht amplifiziert



10 p16 FISH

10.1 Analyt

CDKN2A, der cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A, ist als Gen auf dem menschlichen Chromosom 9, Bande 21.3 lokalisiert und kodiert für zwei Proteine, inklusive des p16 oder p16INK4a Proteins, welches häufig beim Blasenkrebs von Mutationen betroffen sein kann. Im Vergleich zu normalen Urothelzellen weisen Tumorzellen häufig eine erhöhte Kopienzahl aller Chromosomen sowie Deletionen im kurzen Arm von Chromosom 9 auf, die mittels CDKN2A/CEN 3/7/17-FISH -Analyse (Chr. 3, 7 und 17, Locus-spezifische Sonde Chr. 9p21) nachgewiesen werden können.

10.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

10.3 Beschreibung der Untersuchung

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Duplexbildung (mit Sequenzen des CDKN2A-Gens und der alpha-Satelliten von Chromosom 3, 7 und 17 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

10.4 Untersuchungsmaterial

Zytospinpräparate aus Urin

10.5 Untersuchungsmenge

1 Zytospinpräparat. Es müssen mindestens 4 Tumorzellen gezählt werden können.

10.6 Befundung/Beurteilung

Numerische Aberration Chromosom 3, 7 und/oder 17

Keine Abweichung



11 FGFR-1 FISH

11.1 Analyt

FGFR1-Gen. Das FGFR1-Gen kodiert für einen Rezeptor des Wachstumsfaktors Fibroblast Growth Factor, kurz FGF. Liegt das Gen im Erbgut in mehr als vier Kopien, also in veränderter Form vor, werden die Tumoren von diesem Gen abhängig.

11.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

11.3 Beschreibung der Untersuchung

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Duplexbildung (mit Sequenzen des FGFR1-Gens und der alpha-Satelliten von Chromosom 8 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

Die eingesetzte Sonde besteht aus grün-markierten Polynukleotiden die gegen Sequenzen des FGFR1-Gens gerichtet sind, und orange-markierten Polynukleotiden, die gegen alpha-Satelliten-Sequenzen des Zentromers von Chromosom 8 gerichtet sind.

11.4 Untersuchungsmaterial

FFPE Tumorgewebe

11.5 Untersuchungsmenge

Ein Gewebeschnitt mit einer Schnittdicke von 3-5 µm. Es müssen mindestens 20 zusammenhängende Zellen des invasiven Tumorbereichs mit amplifizierten Signalen gezählt werden können.

11.6 Befundung/Beurteilung

Amplifiziert

Nicht amplifiziert



12 ROS-1 FISH

12.1 Analyt

ROS1-Gen. Translokationen mit Beteiligung des ROS1-Gens sind bei verschiedenen Tumoren von großer Bedeutung.

12.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

12.3 Beschreibung der Untersuchung

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Duplexbildung (mit Sequenzen der chromosomalen Region 6q22.1 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

Die eingesetzte Sonde besteht aus grün-markierten Polynukleotiden die in 6q22.1 gegen proximal zum ROS1-Bruchpunkt-Cluster gelegene Sequenzen gerichtet sind, und orange-markierten Polynukleotiden, die in 6q22.1 gegen distal zum ROS1-Bruchpunkt-Cluster gelegene Sequenzen gerichtet sind.

12.4 Untersuchungsmaterial

FFPE Tumorgewebe

12.5 Untersuchungsmenge

1 Gewebeschnitt mit einer Schnittdicke von 3-5 µm. Es müssen mindestens 100 Zellen gezählt werden können.

12.6 Befundung/Beurteilung

Translokation/Deletion

Keine Translokation



13 cMET FISH

13.1 Analyt

cMET-Gen. Der MET (Mesenchymal-epithelial Transition)-Rezeptor spielt vermutlich in zahlreichen Krebsarten eine Rolle. Wird er durch den Liganden Hepatocyte Growth Factor (HGF) aktiviert, dimerisieren die MET-Proteine. Dies löst wiederum eine Signalkaskade aus, an deren Ende Zellen zu Wachstum, Teilung und Streuung in andere Körperorgane angeregt werden. Bei einer Amplifikation des MET Gens erwies sich eine Therapie mit Crizotinib als erfolgversprechend. Das Wissen um die therapeutischen Optionen ermöglicht ein optimales Patientenmanagement.

13.2 Methode

Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH).

13.3 Beschreibung der Untersuchung

Fluoreszenz in situ Hybridisierung. Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch in situ Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden DNA-Sonde. Duplexbildung (mit Sequenzen des MET-Gens und der alpha-satelliten von Chromosom 7 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen

13.4 Untersuchungsmaterial

FFPE Tumorgewebe

13.5 Untersuchungsmenge

1 Gewebeschnitt mit einer Schnittdicke von 3-5 µm. Es müssen mindestens 20 zusammenhängende Zellen gezählt werden können.

13.6 Befundung/Beurteilung

Amplifiziert

Nicht amplifiziert



Erregernachweise

14 Subtypisierung Mycobakterien und *M. tuberculosis complex*

14.1 Analyt

- *M. tuberculosis*
- *M. avium*
- *M. kansasii*
- *M. xenopi*
- *M. abscessus*
- *M. goodii*
- *M. peregrinum*
- *M. szulgai*
- *M. haemophilum*
- *M. marinum/ ulcerans*
- *M. simiae*
- *M. smegmatis*

14.2 Methode

PCR mit anschließender LCD-Chip Analyse

14.3 Beschreibung der Untersuchung

Über PCR werden aus der aus dem Probenmaterial extrahierten DNA biotinylierte PCR-Produkte gewonnen. Die markierten Amplikons hybridisieren an Subtyp-spezifische Sonden auf der LCD Chip Oberfläche. Anschließend folgt ein stringenter Waschschrift, bei dem ungebundene Komponenten entfernt werden. Mittels der Reaktion eines Enzyms mit einem chromogenen Substrat werden die gebundenen Amplikons sichtbar gemacht.

14.4 Untersuchungsmaterial

BAL, Gewebe (fixiert und unfixiert)

14.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL, 1 Gewebeschnitt (15 µm) vom in Paraffin eingebetteten Gewebe (optimal: je nach Größe 3-8 Schnitte) oder ca. erbsengroßes Stück unfixiertes Gewebe.

14.6 Befundung/Beurteilung

Positiv/ Angabe Typ/Subtyp

Negativ



15 Subtypisierung humane Papillomviren (HPV)

15.1 Analyt

HPV Subtypen 06, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 70, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 90, 91

15.2 Methode

PCR mit anschließender LCD-Chip Analyse

15.3 Beschreibung der Untersuchung

Über PCR werden aus der aus dem Probenmaterial extrahierten DNA biotinylierte PCR-Produkte gewonnen. Die markierten Amplikons hybridisieren an Subtyp-spezifische Sonden auf der LCD Chip Oberfläche. Anschließend folgt ein stringenter Waschschrift, bei dem ungebundene Komponenten entfernt werden. Mittels der Reaktion eines Enzyms mit einem chromogenen Substrat werden die gebundenen Amplikons sichtbar gemacht.

15.4 Untersuchungsmaterial

Gewebe (fixiert und unfixiert)

15.5 Untersuchungsmenge

1 Gewebeschnitt (15 µm) vom in Paraffin eingebetteten Gewebe (optimal: je nach Größe 3-8 Schnitte) oder ca. erbsengroßes Stück unfixiertes Gewebe.

15.6 Befundung/Beurteilung

Positiv/ Angabe Typ/Subtyp

Negativ



16 Nachweis respiratorische Viren

16.1 Analyt

- Adenovirus
- Bocavirus
- Coronavirus NL63
- Coronavirus HKU1
- Coronavirus OC43
- Coronavirus 229E
- hMPV
- Influenza A
- Influenza A H1N1v
- Influenza B
- Parainfluenza 1-2-3-4
- Rhinovirus/Enterovirus
- RSV-A
- RSV-B
- Bordetella pertussis
- Chlamydomphila pneumoniae
- Legionella pneumophila
- Mycoplasma pneumophila

16.2 Methode

Qualitative Multiplex-PCR.

16.3 Beschreibung der Untersuchung

Der RespiFinder-Test ermöglicht den gleichzeitigen Nachweis von 22 respiratorischen Erregern. Der Nachweis der Erreger beginnt mit einer Prä-Amplifikation, die einen reversen Transkriptionsschritt mit einem PCR-Schritt kombiniert, um die Ziel-cDNA zu amplifizieren. Anschließend wird die Prä-Amplifikationsreaktion in zwei separaten Ansätzen mit den spezifischen Sonden und fluoreszenzmarkierten hybridisiert. Nach der anschließenden Ligation und Amplifikation erfolgt eine abschließende Schmelzkurvenanalyse über die Erreger identifiziert werden kann.

16.4 Untersuchungsmaterial

BAL, Rachenspülwasser, unfixierte Gewebebiopsien, in Paraffin eingebettetes Gewebe

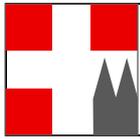
16.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL, Mindestens ein Gewebeschnitt (15 µM) von eingebettetem Gewebe

16.6 Befundung/Beurteilung

Positiv/Negativ für die entsprechenden Erreger

Ein negatives Ergebnis bedeutet nicht unbedingt die Abwesenheit einer viralen oder bakteriellen Atemwegsinfektion; ein negatives Ergebnis sollte nicht als alleinige Grundlage für eine Diagnose, Behandlung oder andere Therapieentscheidungen verwendet werden. Ein positives Ergebnis schließt eine Koinfektion mit weiteren Pathogenen nicht aus. Das/die nachgewiesene/n Pathogen/e ist/sind unter Umständen nicht der eigentliche Krankheitsauslöser.



17 Nachweis neurotrope Viren

17.1 Analyt

- HHV1: Herpes simplex Virus (HSV-1)
- HHV2: Herpes simplex Virus (HSV-2)
- HHV3: Varizella-Zoster-Virus (VZV)
- HHV4: Epstein-Barr-Virus (EBV)
- HHV5: Cytomegalovirus (CMV)
- Enterovirus
- Parechovirus
- Mumpsvirus* (MuV)
- Masernvirus* (MeV)

17.2 Methode

Qualitative Multiplex-PCR.

17.3 Beschreibung der Untersuchung

Der MeningoFinder-Test ermöglicht den gleichzeitigen Nachweis von 9 Erregern. Der Nachweis der Erreger beginnt mit einer Prä-Amplifikation, die einen reversen Transkriptionsschritt mit einem PCR-Schritt kombiniert, um die Ziel-cDNA zu amplifizieren. Anschließend wird die Prä-Amplifikationsreaktion in zwei separaten Ansätzen mit den spezifischen Sonden und fluoreszenzmarkierten hybridisiert. Nach der anschließenden Ligation und Amplifikation erfolgt eine abschließende Schmelzkurvenanalyse über die Erreger identifiziert werden kann.

17.4 Untersuchungsmaterial

BAL, unfixierte Gewebebiopsien, Liquor, in Paraffin eingebettetes Gewebe

17.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL, mindestens ein Gewebeschnitt (15 µM) von eingebettetem Gewebe

17.6 Befundung/Beurteilung

Positiv/Negativ für die entsprechenden Erreger



18 Einzelnachweis von Herpesviren

18.1 Analyt

Die im folgenden aufgeführten Herpesviren, sowie die Herpesviren 6-8 können statt über Multiplex-PCR auch über Einzel-PCRs detektiert werden:

- HHV1: Herpes simplex Virus (HSV-1)
- HHV2: Herpes simplex Virus (HSV-2)
- HHV3: Varizella-Zoster-Virus (VZV)
- HHV4: Epstein-Barr-Virus (EBV)
- HHV5: Cytomegalovirus (CMV)
- HHV6: humanes Herpesvirus 6
- HHV7: humanes Herpesvirus 6
- HHV8: humanes Herpesvirus 6

18.2 Methode

Qualitative Real-time PCR

18.3 Beschreibung der Untersuchung

Bei der Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time PCR ermöglicht den Nachweis der Produkte

18.4 Untersuchungsmaterial

BAL, in Paraffin eingebettetes Gewebe

18.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL , mindestens ein Gewebeschnitt (15 µM) von eingebettetem Gewebe

18.6 Befundung/Beurteilung

Positiv

Negativ



19 Nachweis von Polyomaviren

19.1 Analyt

- humanes Polyomavirus 1 (BK-Virus)
- humanes JC-Polyomavirus (JC-Virus)

19.2 Methode

Qualitative Real-time PCR

19.3 Beschreibung der Untersuchung

Bei der Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time PCR ermöglicht den Nachweis der Produkte

19.4 Untersuchungsmaterial

BAL, in Paraffin eingebettetes Gewebe

19.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL , mindestens ein Gewebeschnitt (15 µM) von eingebettetem Gewebe

19.6 Befundung/Beurteilung

Positiv

Negativ



20 Nachweis von *P. jirovecii*

20.1 Analyt

Pneumocystis jirovecii

20.2 Methode

Qualitative Real-time PCR

20.3 Beschreibung der Untersuchung

Bei der Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time PCR ermöglicht den Nachweis der Produkte

20.4 Untersuchungsmaterial

BAL, in Paraffin eingebettetes Gewebe

20.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL , mindestens ein Gewebeschnitt (15 µM) von eingebettetem Gewebe

20.6 Befundung/Beurteilung

Positiv

Negativ



21 Quantitativer Nachweis von humanem Metapneumovirus (hMPV) und humanem Bocavirus (hBoV)

21.1 Analyt

- humanes Metapneumovirus (hMPV)
- humanes Bocavirus (hBoV)

21.2 Methode

Quantitative Real-time PCR

21.3 Beschreibung der Untersuchung

Bei der Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time PCR ermöglicht den Nachweis der Produkte. Über den Vergleich mit Standards mit bekanntem hBoV-Gehalt, kann neben dem qualitative Nachweis auch ein quantitativer Nachweis durchgeführt werden.

21.4 Untersuchungsmaterial

BAL, in Paraffin eingebettetes Gewebe

21.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 150 µl BAL , mindestens ein Gewebeschnitt (15 µM) von eingebettetem Gewebe

21.6 Befundung/Beurteilung

Positiv (mit Angabe Kopien/ml)

Negativ



22 Nachweis von Aspergillus Galaktomanan

22.1 Analyt

Aspergillus Galctomannan Antigen

22.2 Methode

Sandwich-Mikrotiterplatten-Enzymimmunoassay

22.3 Beschreibung der Untersuchung

Mikrotiterplatten die mit gegen Aspergillus galactomannan gerichteten Antikörpern beschichtet sind werden mit der zu untersuchenden Probe überchichtet. Nach Inkubation und stringenten Waschsritten und der Inkubation mit Peroxidase gekoppelten Antikörpern kann das Vorhandensein von Aspergillus Galaktomanan im Spektrophotometer detektiert werden.

22.4 Untersuchungsmaterial

BAL

22.5 Untersuchungsmenge

Mindestens 300 µl BAL

22.6 Befundung/Beurteilung

Positiv

Negativ



23 Panfungale/ panbakterielle PCR

23.1 Analyt

- Pilz-DNA allgemein
- Bakterien-DNA allgemein

Der allgemeine Nachweis von Pilz- oder Bakterien-DNA setzt keinen Verdacht auf einen bestimmten Erreger voraus. Er gibt ersten Aufschluss über Infektion mit Pilzen oder Bakterien.

23.2 Methode

Breitspektrum PCR mit anschließender Amplifikat-Analyse durch Gelelektrophorese

23.3 Beschreibung der Untersuchung

Über eine gegen konservierte Regionen im Pilzgenom (ITS-Region) bzw. Bakteriengenom (16S Untereinheit) gerichtete PCR werden Amplifikate gebildet, die im Anschluß über Gelelektrophorese aufgetrennt und detektiert werden können.

23.4 Untersuchungsmaterial

Abstriche, Spülwasser, unfixiertes Gewebe

23.5 Untersuchungsmenge

1 Abstrich, min. 150 µl Spülwasser, ca. erbsengroßes Stück Gewebe

23.6 Befundung/Beurteilung

Positiv

Negativ



24 uPA/PAI-1

24.1 Analyt

uPA (Plasminogen-Aktivator vom Urokinase-Typ) und PAI-1 (Inhibitor des Plasminogen-Aktivators). Die Bestimmung der uPA /PAI-1 Werte dient als Prognosefaktor für bzw. gegen den Einsatz einer Chemotherapie bei Brustkrebs.

24.2 Methode

Sandwich-Mikrotiterplatten-Enzymimmunoassay

24.3 Beschreibung der Untersuchung

Mikrotiterplatten die mit gegen humanes uPA bzw. PAI-1 gerichtete Antikörpern beschichtet sind werden mit der zu untersuchenden Probe überschichtet. Nach stringenten Waschschrinen und der Inkubation mit Peroxidase gekoppelten Antikörpern kann die Menge an uPA/PAI-1 im Spektrophotometer ermittelt werden.

24.4 Untersuchungsmaterial

Tumorgewebe

24.5 Untersuchungsmenge

ca. erbsengroßes Stück Gewebe

24.6 Befundung/Beurteilung

Niedriger uPA/PAI-1 Wert

Erhöhter uPA/PAI-1 Wert