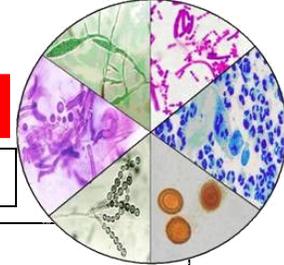


**Direktnachweis von Dermatophyten aus Patientenmaterial mittels Polymerasekettenreaktion (PCR)**



**Dermatomykologie**

Labordiagnostik basiert bisher auf

3. Mikroskopischem Präparat

- KOH (20 %)      geringe Empfindlichkeit      Nägel 34,4 %
- Fluoreszenzoptisches Präparat      (Calcofluor/Blancophor)



deutlich höhere Empfindlichkeit

2. Kulturellem Pilznachweis      Empfindlichkeit ca. 70 %

**Einsatz der Dermatophyten-PCR über 10 Monate**

**3664 Proben (Haut und Nägel) insgesamt**

Dermatophyt nachweisbar mittels Kultur u./o. PCR (100 %)      1414

- Kultur & PCR pos.      960      68 %
- Kultur pos.; PCR neg.      201      14 %
- Kultur neg.; PCR pos.      253      18 %

**Molekularbiologischer Nachweis von Dermatophyten mittels PCR**

**Dermatophyten-DNA-Isolierung (Qiagen QIAamp DNA Mini Kit 250)**

- Lyse des Nagelmaterials & Hautschuppen      ca. 10 µg
- Bindung der DNA an einer Silikat-Membran-Säule
- Elution der DNA von der Silikatmembran

Methode

**Vervielfältigung der Dermatophyten-DNA durch PCR**

- PCR-Mastermix + Taq-DNA-Polymerase + Primer 1 + Digoxigenin-markierter Primer 2 + Template-DNA
- Amplifikation/PCR im Cycler
  - Denaturieren, Anneling (Primeranlagerung), Extension

**Visualisierung des PCR-Produkts mittels Elisa**

- Digoxigenin-markiertes PCR-Produkt + biotinylierte Sonde
- Bindung an Streptavidin-beschichtete Festphase
- + Peroxidase-konjugierte Anti-Digoxigenin-Ak + Substrat

**Farbentwicklung = positiv**

	Sensitivität	Spezifität
Calcofluor-Präparat	80,1 %	80,6 %
Kultur	82,1 %	(100 %)
<b>PCR</b>	<b>85,8 %</b>	

**PCR-Elisa-Assay zum Direktnachweis von Dermatophyten DNA**

- **ergänzt klassische Diagnostik & erhöht Anteil positiver Ergebnisse**
- **hat eine höhere diagnostische Empfindlichkeit als die Kultur**
- verkürzt im positiven Fall die Zeit bis zur Diagnosestellung deutlich und
- ist wirtschaftlich.
- Nachteil: hoher Personalaufwand

**Unser Angebot zur Diagnostik von Dermatomykosen**

- Untersuchung von **Hautschuppen, Nagelspänen und Haarwurzeln** auf Dermatophyten, Sproßpilze und Schimmelpilze
- Calcofluor-Präparat
- Kultureller Erregernachweis
- **PCR-Elisa-Assay zum Direktnachweis von Dermatophyten-DNA**

**PCR zum Nachweis von Dermatophyten-DNA**

Nagelspäne *Trichophyton (T.) rubrum, T. interdigitale & Epidermophyton floccosum*  
 Hautschuppen *Trichophyton (T.) rubrum, T. interdigitale, Epidermophyton floccosum & Microsporum canis*

Literatur

Herrmann J, Mügge C, Bezold G, Uhrlaß S, Nenoff. P Species-identification of the dermatophytes *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* and *Epidermophyton floccosum* directly from clinical samples by PCR-Elisa technique - use in mycological routine laboratory diagnostics. *Mycoses* 2008; 51: 401-402 (abstract)

Mölbis, 29. Januar 2009

Dr. Jürgen Herrmann

Dr. Constanze Krüger

Prof. Pietro Nenoff