

Schwere Blutstrominfektionen zielgerichtet aufklären – Sepsis NGS

Identifizierung von über 16.000 Mikroorganismen mittels Noscendo DISQVER® Next-Generation Sequencing

Klinischer Hintergrund

Sepsis ist die schwerste Verlaufsform von Infektionskrankheiten mit einer Letalität von 40 % in Deutschland. Die kulturbasierte Diagnostik von Blutstrominfektionen gilt nach wie vor als Goldstandard, ist jedoch in nur maximal 20 bis 30 % der Fälle positiv. Gründe hierfür können z. B. geringe Erregerlast, nicht, schwer oder lediglich unter Spezialbedingungen kultivierbare Pathogene oder eine aktuelle oder vorhergehende Antibiotikatherapie des Patienten sein. Bei der Herangehensweise mittels Multiplex-PCR ist die Erregeridentifizierung durch die Anzahl der Erreger, die gleichzeitig in einem Panel detektiert werden können, begrenzt und durch die nicht quantitativen Ergebnisse ist eine Unterscheidung zwischen Infektion vs. Kontamination vs. Kolonisation nur schwierig möglich!

Der DISQVER-Test bietet eine sehr gute Ergänzung zur klassischen kulturellen Infektionsdiagnostik. Bei diesem metagenomischen Sequenzierungsansatz wird die gesamte DNA-Information, das heißt die humane, bakterielle, virale, parasitäre und fungale DNA in einer Probe mittels einer hochmodernen Sequenzier-

Infobox

- Hypothesenfreie Identifizierung von > 16.000 Bakterien, Pilzen, DNA-Viren und Parasiten
- Erregernachweis auch unter antiinfektiver Therapie möglich
- Polymikrobielle Erregerdetektion
- Minimalinvasiv

ungstechnologie (Next-Generation Sequencing, NGS) erfasst. Die Gen-Information humaner DNA wird aus dem Sequenz-Datensatz herausgefiltert und die restlichen Daten werden mit einer Datenbank mit der Gen-Information von > 16.000 Mikroorganismen (> 1.500 potentielle Pathogene) abgeglichen. Das Ergebnis beinhaltet die Namen aller in der Probe nachweisbaren Mikroorganismen. Vorteil eines solchen molekularbiologischen Nachweises ist, dass DNA-Viren, Bakterien, Pilze und Parasiten hochsensitiv und semiquantitativ erfasst werden. Die Stärke des Verfahrens liegt im breiten Screenen nach möglichen Pathogen ohne die Einschränkung eines vordefinierten PCR-Panels (siehe Box Fallbeispiele).

Autoren:

Dr. med. Konrad Bode, Dr. Frieder Haenisch, Limbach Gruppe

1. Goretzki, S. C., Schäfer, M., Dogan, B., Bruns, N. et al.: Next Generation Sequencing of Free Microbial DNA for Rapid Identification of Pathogens in Critically Ill Children with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS). *Front Biosci-Landmark*, 2022; 27, 302.
2. Ziegler, S., Disqué, C., Grumaz, S. & Sakka, S. G.: Potential impact of cell-free DNA blood testing in the diagnosis of sepsis. *Int J Infect Dis*, 2022; 119, 77-79.
3. Decker, S. O., Sigl, A., Grumaz, C., Stevens, P. et al.: New approaches for the detection of invasive fungal diseases in patients following liver transplantation—results of an observational clinical pilot study. *Langenbeck's Archives Surg*, 2019; 404, 309-325 (2019).
4. Kattner, S., Herbstreit, F., Schmidt, K., Stevens, P. et al.: Next-Generation Sequencing-Based Decision Support for Intensivists in Difficult-to-Diagnose Disease States: A Case Report of Invasive Cerebral Aspergillosis. *Pract*, 2021; 15, e01447.
5. Decker, S. O., Sigl, A., Grumaz, C., Stevens, P. et al.: Immune-Response Patterns and Next Generation Sequencing Diagnostics for the Detection of Mycoses in Patients with Septic Shock—Results of a Combined Clinical and Experimental Investigation. *Int J Mol Sci*, 2017; 18, 1796.
6. Schulz E. 2021; ePoster 31st European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID)

Stand: Juni 2023

Ihr Ansprechpartner:
Dr. med. Konrad Bode
Facharzt für Mikrobiologie, Virologie
und Infektionsepidemiologie
Telefon: +49 6221 3432-573
konrad.bode@labor-limbach.de

Blutkultur: 32 %



NGS: 72 %



Abbildung: Signifikant höhere Sensitivität beim DISQVER-Test (ausgesprochen wie „Discover“) im Vergleich zur konventionellen Blutkultur-Diagnostik

Fallbeispiele				
Grunderkrankung	NGS aus Blut	Blutkulturdiagnostik	Therapieanpassung	Literatur
Zervixkarzinom	Anaerobier	negativ	Ja	Schulz, E. 2021
Perforierte Sigmadivertikulitis	Bacteroides fragilis, B. thetaiotaomicron, Enterococcus faecium, u. a.	negativ	Ja	Ziegler, S. et al. 2022
Biliodigestive/gastrojejunale Anastomose	Bacteroides fragilis, Enterobacter cloacae, Candida albicans	Candida albicans, Lactobacillus rhamnosus	Ja	Decker O.S. et al. 2017
Polycythaemia vera + Hirnabszess	Aspergillus fumigatus	negativ	keine	Kattner, S. et al. 2021
Systemic Inflammatory Response Syndrome bei einem Kind	BK Virus, ADV und Aspergillus fumigatus	BK-Virus-PCR Blut + Urin ADV-PCR Stuhl + Urin + Blut Aspergillus fumigatus AG + Kultur BAL + Blut	keine	Goretzki, S. C. et al. 2022
Systemic Inflammatory Response Syndrome	Pseudomonas aeruginosa und Pseudomonas protegens	negativ	Ja	Goretzki, S. C. et al. 2022
Lebertransplantation, Verdacht auf Blutstrominfektion	Candida albicans	negativ	Ja	Decker, S. O. et al. 2019

Abkürzungen: ADV = Adeno-Viren, AG = Antigen, BAL = bronchioalveoläre Lavage

Der Erreger wird anhand seiner DNA und damit unabhängig von einer vorausgehenden Erregeranzucht identifiziert. Als Untersuchungsmaterial wird zellfreies Plasma/Punktat eingesetzt und die daraus gewonnene zellfreie DNA (cell-free DNA, cfDNA) sequenziert. Diese kurzen, im Blut, aber auch in anderen Körperflüssigkeiten zu findenden DNA-Fragmente, haben den Vorteil, dass sie durch ihre kurze Halbwertszeit ein präziser Marker für aktuell bestehende Infektionen sind. Die instabile cfDNA wird in einem speziellen Transportmedium im Entnahmeröhrchen nach der Probenentnahme stabilisiert, sodass ein Transport von bis zu 24 Stunden bei Raumtemperatur allenfalls einen geringen Effekt auf die Qualität des Ergebnisses hat. Durch die einfache Präanalytik lässt sich die Probenentnahme gut in die klinischen Arbeitsabläufe auf Station integrieren.

In mehreren Veröffentlichungen konnte die deutliche Überlegenheit dieser Sequenzier-technologie zur klassischen Blutkulturdiagnostik gezeigt werden. So wurde in einer Studie in einem Patientenkollektiv von 53 septischen Patienten der DISQVER-Test mit der Blutkulturdiagnostik verglichen. Mit dem DISQVER-Test konn-

te in 72 % der Patientenproben ein Erregernachweis erfolgen, wohingegen mit der Blutkultur nur bei 32 % der Patientenproben ein Keimnachweis erfolgte (siehe Abbildung). Alle kulturell diagnostizierten Erreger wurden auch bei dem DISQVER-Test gefunden. Unter antibiotischer Therapie fiel der Unterschied noch deutlicher aus. Eine vergleichbare Überlegenheit des DISQVER-Test zur Blutkultur konnte auch in einer Studie an einem Kollektiv von hämatologischen Patient*innen gezeigt werden. In einem Fallbericht konnte sogar bei einem Patienten mit einem intrakraniellen Prozess ein Aspergillus fumigatus aus der cfDNA im Blutplasma nachgewiesen werden (siehe Box Fallbeispiele).

Indikation

Patient*innen mit schweren Blutstrominfektionen (Bakteriämie, Sepsis, septischer Schock) oder auch Patient*innen mit kulturnegativer Endokarditis profitieren von diesem NGS-Verfahren. Neben der Erregerdiagnostik aus Blut, wie zum Beispiel bei Sepsis, ist der Test auch für andere flüssige Untersuchungsmaterialien wie Liquor, Perikarderguss, Aszites, Pleuraerguss und Gelenkerguss.

Hinweise zu Präanalytik und Abrechnung	
Probenmaterial	Cell-Free DNA BCT-Spezialröhrchen (Streck-Röhrchen [#]) für die Untersuchungsmaterialien 7 ml Vollblut, 7 ml Liquor*, 7 ml Perikarderguss*, 7 ml Aszites*, 7 ml Pleuraerguss*, 7 ml Gelenkerguss
Probentransport	Kurierdienst
Methode	Next-Generation Sequencing
	Preise auf Anfrage in Ihrem Labor

* Für das Material ist der Test noch nicht CE-gezeichnet. * Das Material darf nie eingefroren werden!

Befundbewertung

Das primäre Untersuchungsergebnis ist eine Aufstellung der identifizierten Mikroorganismen mit einer Einschätzung der klinischen Relevanz. Die Auswertung der NGS-Sequenzierdaten erfolgt über den CE-zertifizierten DISQVER[®]-Algorithmus der Firma Noscedo GmbH in Reutlingen.

Präanalytik

Es werden 7 ml flüssiges Untersuchungsmaterial in Cell-Free DNA BCT-Spezialröhrchen, auch Streck-Röhrchen genannt, entnommen. Die Probe ist bei Raumtemperatur für 24 Stunden stabil und kann per Kurierfahrt transportiert werden. Weitere Untersuchungsmaterialien wie Liquor*, Perikarderguss*, Aszites*, Pleuraerguss* und Gelenkerguss sind für die Untersuchung ebenfalls geeignet.