

Im Fokus

Innovative Schnelltests

Das Wort Schnelltest wurde im Lauf der letzten zehn Jahre immer häufiger zum Synonym für „Streifentest“, denn die unscheinbaren weißen Plastikstreifen mit dem oft hochkomplizierten Innenleben erlebten in dieser Zeit einen unglaublichen Aufschwung. In einer typisch S-förmigen Aufwärtskurve entwickelten sich die Umsätze seit der Jahrtausendwende so rasant, dass heute jeder dritte Euro in der Labordiagnostik für Teststreifen – insbesondere für Blutzuckerselbstmessungen – ausgegeben wird. Doch seit 2006 flacht die Umsatzkurve ab, und zu allem Überfluss hat das IQWiG nun auch noch den medizinischen Wert dieser Massentestungen in Frage gestellt* (siehe Kommentar des VDGH). So ist nun zumindest der schnelle Euro mit den schnellen Streifen nicht mehr zu machen. Die schnelle Diagnostik wird aber weiterhin gefragt bleiben.



Eine neue Generation von noch wesentlich komplizierteren Verfahren ist angetreten, alles immens zu beschleunigen, was in der Diagnostik bisher als langsam galt. Vor allem Infektionsnachweise und Medikamentenspiegelbestimmungen benötigten in der Vergangenheit oft Stunden bis Tage – bis dahin war der Patient womöglich schon gestorben. Das neue Zauberwort heißt Massenspektrometrie (MS). In der letzten Trillium-Ausgabe hatten wir die Technik der LC-MS/MS bereits für den schnellen Drogen- und Medikamentennachweis vorgestellt; auf den nächsten Seiten geht es nun um das Schweinegrippevirus und andere Krankheitserreger. Hier eröffnet sich ein neuer gewaltiger Markt für innovative Schnelltests. Um die Zukunft der Branche muss uns also nicht bange sein.

gh

* Seufert J. Blutzuckerselbstkontrolle: Selbstzweck oder das Maß aller Dinge (Editorial). Dt. Ärzteblatt 2009; 106 (37): 585-586

Gastkommentar

Nicht nachvollziehbar

Typ-1-Diabetiker sollten den Blutzucker regelmäßig selbst kontrollieren, um ihr Insulin bedarfsgerecht dosieren zu können – das ist unstrittig. Unklar ist, ob das auch für nicht insulinpflichtige Typ-2-Diabetiker gilt. Das Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) legte sich Ende Juni überraschend deutlich fest: Es gebe keine Belege dafür, dass diese Patienten von der Selbsttestung profitieren. Das Gutachten berücksichtigte sechs vergleichende Studien mit und ohne Selbstmessung. Bewertet wurde nur die Intervention selbst, nicht das Schulungs- und Behandlungsumfeld als Ganzes. Als Kriterien dienten dennoch neben Glukose- und HbA1c-Werten auch Therapiezufriedenheit, Lebensqualität und diabetische Spätkomplikationen, also Endpunkte, die viel mit der Behandlung des Diabetes, aber – abgesehen von den Zuckerwerten – so gut wie nichts mit der Blutzuckermessung zu tun haben. Wir schließen uns der Meinung von Prof. Jochen Seufert* an, dass die derzeitige Studienlage für ein abschließendes Urteil nicht ausreicht und Argumente für eine konstruktive Diskussion gesammelt werden müssen. Wir halten aber

ein negatives Votum für einen diagnostischen Test aufgrund ungeeigneter Kriterien nicht für nachvollziehbar.



Dr. Martin Walger
Verband der Diagnostica-Industrie VDGH
www.vdgh.de

swisslab

Medizinische Informationssysteme

www.swisslab.de | tel. +49-30-62 60 10

Zentrallabor

- Mikrobiologie
- Transfusion
- Pathologie

Universitätskliniken

Krankenhäuser

Facharztlabore

Die diagnostische Informationsplattform



H1N1, der Erreger des Jahres 2009

Pandemie ohne Panik

Am 11. Juni rief die WHO die höchste Alarmstufe für die so genannte Schweinegrippe aus. Dank genauer molekularbiologischer Kenntnisse und Nachweistests ist die Menschheit aber heute besser vorbereitet als im letzten Jahrhundert.

Die Grippe (lateinisch Influenza) gehört ähnlich wie HIV, Ebola oder Tuberkulose zu den großen Krankheitsplagen der Menschheit. Den ersten Platz belegt die Influenza A, weil ihre Konkurrenz-Erreger eine deutlich schlechtere Übertragungswahrscheinlichkeit und damit eine langsamere Ausbreitungsdynamik aufweisen. Ihr Potenzial, in kurzer Zeit Millionen von Menschen infizieren zu können, ist ein einzigartiges Charakteristikum: Selbst bei einer Todesrate von nur 2% könnte es weit über 100 Millionen Tote weltweit geben, wenn es zu einer Pandemie mit einem hoch aggressiven Erreger käme.

Allerdings besteht derzeit kein Grund zur Panik, denn unser aktuelles Wissen über die Gefährlichkeit der verschiedenen Subtypen hilft, optimale Strategien zur Prävention zu etablieren. Nach einer Infektion vermittelt Haemagglutinin (H) die Bindung des Virus an die Zielzellen des Wirtes, in die es eindringt und sich vermehrt. Mit Unterstützung des Enzyms Neuraminidase (N) werden die gebildeten

Viren dann wieder ausgeschleust, um weitere Zellen zu infizieren. Dieser Prozess führt zu Erkrankungen mit Fieber, Gliederschmerzen, Husten, Halsschmerzen, aber auch zu Durchfall und anderen, weniger typischen Symptomen.

Haemagglutinin und Neuraminidase machen die Viren serologisch und damit auch nach Art und Herkunft unterscheidbar (H1N1, H2N3, H5N1). Mutationen im Bereich dieser Gene bewirken eine kontinuierliche Veränderung des viralen Erbgutes (*antigen drift*), jedoch zumeist ohne gravierende Konsequenzen für den Infizierten. Problematisch wird es erst, wenn sich verschiedene Virustypen im selben Wirtsorganismus zu neuen Typen mit geänderten Eigenschaften der Übertragbarkeit oder Aggressivität mischen (*antigen shift*). So kann es zum Beispiel zu schwereren Symptomen bei geringerer Infektionsrate kommen oder umgekehrt.

Bedrohung durch Supervariante

Mutationen ermöglichen es dem Virus ferner, sich dem Immunsystem des Wirtes immer wieder zu entziehen und eine dauerhafte Immunität nach Infektion oder Impfung zu verhindern. Die Vogelgrippe vom Typ H5N1 und die Schweinegrippe vom Typ H1N1 sind entgegengerichtete Beispiele hierfür. Die erstere führte fast immer zum Tod, wurde aber nur selten

im Menschen nachgewiesen und noch seltener von Mensch zu Mensch übertragen, die letztere wurde zu einer weltweiten Pandemie mit vergleichsweise milder Symptomatik. Eine leicht übertragbare und zugleich aggressive „Supervariante“ könnte aus einer Verbindung dieser beiden Erreger entstehen – ein seltenes, aber eben durchaus denkbare Szenario.

Bislang waren an weltweiten Pandemien vor allem die Typen H1, H2 und H3, seltener H5, H7 und H9 beteiligt. Die „Neue Grippe“ wird durch eine H1N1-Variante mit Erbgut von humanen, aviären (Vogel) und porcinen (Schwein) Virustypen verursacht. Der Name „Schweinegrippe“ ist deshalb nicht ganz korrekt. Vom Überschreiten der Speziesbarriere geht vornehmlich bei Wasservögeln eine ernstzunehmende Bedrohung aus.

Der älteste molekularbiologisch gut untersuchte Influenzaausbruch vom Typ A-H1N1 war die spanische Grippe von 1918 bis 1920 mit über 40 Millionen Toten. Sie wurde durch Truppenbewegungen im ersten Weltkrieg nach Europa importiert und traf auf eine für den Infektionserreger günstige Umgebung: Mangelnde Hygiene, schlechte medizinische Versorgung und Unterernährung führten dazu, dass sie sich in mehreren Wellen über die Bevölkerung ergießen konnte. Varianten der Spanischen Grippe wurden zwischen 1930 und 1950

und dann wieder in den späten 70er Jahren des letzten Jahrhunderts nachgewiesen. Auch die „Neue Grippe“ ist ein Abkömmling dieser gefährlichen Virus-Isolate. Quasi aus dem Nichts wurde sie in das Bewusstsein der Bevölkerung katapultiert. Das neue Influenza-Virus vom Typ H1N1 begann seinen Siegeszug in Mexiko und breitete sich mit hoher Übertragungsrates durch Tröpfcheninfektion, Körperkontakt u.ä. rund um die Welt aus.

Nach ein bis vier Tagen stellen sich unterschiedlich schwere Symptome von leichten Erkältungszeichen bis zu schwerer Lungenentzündung ein. Ein spezifischer Verdacht auf die „Neue Grippe“ besteht laut RKI bei Fieber über 38°C und mindestens zwei Atemwegssymptomen wie Husten, Schnupfen oder Atemnot. Da die Mehrzahl der Infizierten nur leicht oder gar nicht sichtbar erkrankt, ist der Übertragungsweg oft schwer zu verfolgen. Deshalb wurden anfangs zu Recht sehr umfangreiche Maßnahmen eingeleitet. Die Gesundheitsämter ordneten zur Eindämmung der Gefahr neben strikten Quarantänemaßnahmen die Untersuchung aller symptomatischen Patienten und deren Kontaktpersonen an. Bei positivem Befund mussten ganze Reisegesellschaften oder Schulklassen ermittelt, kontaktiert und nachgetestet werden.

Enormes Engagement

Auf Referenzlabore wie das des Autors kamen damit erhebliche Herausforderungen zu. Innerhalb weniger Tage hatten sie ein Protokoll zu etablieren, das ein bis dato unbekanntes Virus-Isolat (Influenza A/H1N1/California/04/2009) sicher nachweist und zudem in der Lage war, Probenzahlen bis zu 100-fach über dem Tagesdurchschnitt der normalen Grippesaison zu bearbeiten. Dank rascher Verfügbarkeit solcher Tests wurde das Management des Infektionsschutzes bekanntlich ein Erfolg. Dem enormen Engagement aller Mitarbeiter in den Laboren und sonstigen involvierten Einrichtungen ist nicht genug Respekt zu zollen.

Aus einem Nasen- oder Rachenabstrich liegt das Resultat der Untersuchung innerhalb weniger Stunden vor. Dafür wird das Erbgut des Erregers mit chemisch-thermischen Verfahren isoliert und mit real-time PCR nachgewiesen. Auch andere Tests wie die nebenstehend beschriebene ESI-TOF-Methode stehen in unserem Labor zur Erprobung an. Damit könnten in noch kürzerer Zeit als bisher Hunderte klinischer Proben auf die Anwesenheit neuer, auch unbekannter Grippe-Erreger untersucht werden.

Die massive Testung aller symptomatischen Personen mit Reisehistorie (USA, Mexiko, Spanien etc.) erbrachte einen raschen Zugewinn an Erkenntnissen. Logistik und Kommunikationswege, besonders zu den Gesundheitsämtern, wurden ausgebaut, so dass die Gruppe der untersuchten Personen bald sinnvoll eingeschränkt und die Zahl der Probenentnahmen je Patient ebenso wie Kontrolluntersuchungen wieder reduziert werden konnten. Inzwischen hat sich die Lage auch durch das Angebot kommerzieller Tests für das virologische Routinelabor entspannt (s.S. 144).

Sorgen wegen Sorglosigkeit

Durch die finanziellen Beschränkungen im Gesundheitssystem sanken die täglichen Untersuchungszahlen in den letzten Wochen noch weiter ab und gelten für viele Experten mittlerweile als kritisch. Nun werden Patienten bis zum Abklingen der Beschwerden nur noch in häusliche Quarantäne entlassen, Kontaktpersonen in der Regel nicht mehr untersucht. Nur in Ausnahmefällen, zum Beispiel bei Immunschwäche, schweren Verläufen oder Säuglingen, wird eine Labordiagnostik empfohlen, ebenso bei Mitarbeitern in vulnerablen Bereichen wie Krankenhäusern und Pflegeeinrichtungen. Erfreulicherweise ist die molekularbiologische Laboruntersuchung aber auch weiterhin ohne Einschränkungen bei Verdacht auf saisonale Influenza möglich und stellt eine diagnostische Alternative dar, da der neue H1N1-Erreger dabei miterfasst wird.

Renommierte Epidemiologen warnen vor allzu großer Sorglosigkeit, denn Labore in den USA dokumentieren bereits neue Veränderungen des Erregers. Die große Befürchtung besteht, dass mangels kontinuierlicher, auch labormedizinischer Überwachung (*surveillance*) eine aggressive H1N1-Variante und deren Ausbreitung zu spät erkannt werden könnte.

Die konsequente Reduktion der Laboruntersuchungen mag gesundheitsökonomisch sinnvoll sein, unter epidemiologischen Gesichtspunkten verlieren wir jedoch auch wichtige Daten zur Überwachung der Pandemie. Sorgfältige Kosten-

Nutzen-Abwägung und innovative Tests sind die beste Gewähr, dass die Pandemie auch künftig nicht zur Panik führt.



Dr. Carsten Tiemann
RKI-Referenzlabor
Labcon-OWL
Bad Salzuflen
tiemann@laborkrone.de

Fahndungserfolg

Kriminologen und Epidemiologen haben einiges gemeinsam: Sie analysieren genetische Codes mit innovativer Technologie und bei beiden spielen Glück und scharfe Beobachtungsgabe eine Rolle – so auch bei der Aufklärung der ersten beiden Schweinegrippefälle in den USA. Es handelte sich um zwei Kinder aus dem Raum San Diego nahe der mexikanischen Grenze.



Angst vor der Schweinegrippe in Mexiko.

Ärzte des nationalen Überwachungsprogramms *Border Infectious Disease Surveillance* hatten während der jährlichen Grippezeit ab Oktober routinemäßig Abstriche der Nasenschleimhaut von Personen mit Grippesymptomen in den Kliniken beiderseits der Grenze abgenommen und an das lokale *Naval Health Research Center* geschickt. Am 1. April 2009 ging dort laut einem kürzlich publizierten Bericht im Wissenschaftsmagazin *Science* die Probe eines 10-jährigen Jungen mit einem unbekanntem Subtyp des Influenza A-Virus ein. So schickte man die Probe ohne besonderen Verdacht an die CDC Headquarters in Atlanta weiter.

Einige Tage später stieß man im Forschungszentrum auf dasselbe Problem mit der Probe eines 9-jährigen Mädchens. Diesmal wurden die Mitarbeiter hellhörig und führten einen molekularbiologischen Schnelltest mit einem brandneuen Versuchssystem für die genetische Identifikation von Viren und Bakterien durch. Es stammt von Ibis Biosciences in Carlsbad (heute Abbott Molecular) und bestimmt das Molekulargewicht der Virusnukleinsäuren mit Hilfe der Massenspektrometrie. In einer genetischen Virendatenbank suchten die Wissenschaftler nach Ähnlichkeiten und wurden nach wenigen Stunden fündig, noch bevor der erste Befund des Referenzlabors eingetroffen war. Zu ihrem Schrecken fanden die Forscher einen Virenstamm der sogenannten Schweinegrippe, der später auch in der Probe des 10-jährigen Jungen bestätigt wurde. Der Rest der Geschichte ist bekannt.

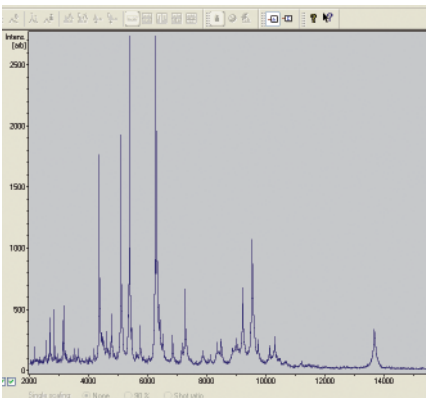
Noch ist der massenspektrometrische Schnelltest von den Gesundheitsbehörden nicht anerkannt, doch die Forscher sind überzeugt, dass massenspektrometrische Verfahren die Früherkennung von Seuchen revolutionieren könnten. Mehr dazu auf den nächsten Seiten.

gh

Massenspektrometrische Bakterienidentifizierung

Molekulare Signaturen

Massenspektrometrische Verfahren wie ESI- und MALDI-TOF könnten die mikrobiologische Diagnostik revolutionieren. Sie erlauben es, Keime anhand ihrer molekularen Signaturen schnell und weitgehend automatisiert zu identifizieren.



Infektionserreger lassen sich u.a. aufgrund der Massenspektren ihrer Nukleinsäuren und Proteine charakterisieren. Jeder Keim besitzt seine spezifische Unterschrift („Signatur“).

Die derzeit aktuellste technische Lösung zur wissenschaftlichen und diagnostischen Keimidentifizierung nutzt ein Verfahren, das eigentlich schon seit Anfang des letzten Jahrhunderts bekannt ist: die Massenspektrometrie (MS). Sie geht zurück auf den Physiknobelpreisträger J.J. Thompson, dem es 1912 zum ersten Mal gelang, Neon-Isotope aufgrund ihrer unterschiedlichen Masse zu trennen.

1988 wendeten J. Fenn und K. Tanaka dieses Prinzip auf Proteine und andere biologische Makromoleküle an und erhielten dafür 2002 den Chemie-Nobelpreis. Werden geladene Moleküle unter Hochspannung durch ein Flugrohr „geschossen“, so benötigen sie je nach Masse und Ladung unterschiedliche Flugzeiten (time of flight, TOF). Fenn verwendete zur Ionisierung die Elektrospray-Ionisation (ESI), Tanaka einen Laserstrahl (LDI). Zeichnet man die Flugzeiten grafisch auf, so erhält man ein typisches Massenspektrum, dessen Peaks den unterschiedlichen Molekülen entsprechen. Man kann sich das Messprinzip am besten wie einen Wurf unterschiedlich großer Murmeln vorstellen: Die anfangs in der Faust (der „Probe“) zusammengeballten Kugeln liegen am Ende nach der Größe sortiert auf dem Boden.

Die Nobelpreisverleihung für dieses geniale Prinzip war aus deutscher Sicht enttäuschend, da Franz Hillenkamp und Michael Karas leer ausgingen. Sie hatten bereits 1985 eine ähnliche Technik entwickelt, die unter dem Namen MALDI-TOF (MALDI=Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization) ebenso große Verbreitung wie ESI gefunden hat. Anstelle des Elektrosprays wird zur Ionisation der Makromoleküle eine organische Säure („Matrix“) verwendet.

Massenspektrometer für Makromoleküle waren jahrzehntelang sehr groß und teuer und vor allem anspruchsvoll in der Bedienung. Sie kamen deshalb vorwiegend in der Grundlagenforschung zum Einsatz, doch durch die technische Weiterentwicklung gibt es seit einigen Jahren auch Geräte für das mikrobiologische Routinelabor, die in der nebenstehenden Tabelle vorgestellt werden.

Eine junge Gerätegeneration

Den Anfang machte im Jahr 2000 die Firma AnagnosTec mit der Datenbank Saramis, die zunächst mit Massenspektrometern der Firma Applied Biosystems, seit 2007 mit dem MALDI-TOF-Gerät Axima von Shimadzu vertrieben wird. 2004 stellte Bruker Daltonics die erste Version eines MALDI-TOF-Systems vor, das inzwischen als MALDI Biotyper in den Workflow vieler mikrobiologischer Labore integriert ist. Das ESI-TOF-Verfahren wird seit 2006 im IBIS T5000-Gerät in den USA eingesetzt. Nach Weiterentwicklung durch Ibis Biosciences und Abbott Molecular kommt es Ende 2009 als PLEX-ID System weltweit auf den Markt. Obwohl also diese Gerätegeneration der Massenspektrometer zur Bakterienidentifizierung noch sehr jung ist, hat sie doch bereits viele Freunde gewonnen, weil die Systeme relativ leicht bedienbar, kostengünstig und schnell sind.

Die klassischen biochemischen Verfahren benötigen zudem in der Regel Vorkenntnisse (Bakterium oder Pilz, gram-positiv oder gram-negativ, aerob oder anaerob) und auch relativ große Mengen an Keimen. Schließlich liefert die Massenspektrometrie

mitunter genauere Erregeridentifikationen. Wir haben in unserem Labor über 1000 Keime im MALDI Biotyper und biochemisch verglichen und kamen auf eine Übereinstimmung auf Speziesebene von 92,4%, auf Genusebene von 98,5%. Überlegen war das MALDI-TOF-Verfahren bei gram-negativen Stäbchen, Hefen, Staphylokokken und Enterokokken.

Messzeiten von wenigen Minuten

Der Vorteil der Massenspektrometrie besteht nun darin, dass das Gerät völlig unabhängig vom Vorwissen über den Keim den genauen Speziesnamen durch Vergleich der Signatur mit einer Datenbank liefert. Oft kann sogar eine vorherige Isolierung und Vermehrung des Keimes (z.B. aus positiven Blutkulturen) entfallen. Der Lesevorgang dauert nur Sekunden, die gesamte Messung Minuten. Auch wenn noch keine Resistenztestung vorliegt, können wir allein aufgrund der Datenbankrecherche häufig schon Keime zuordnen und Aussagen zur Antibiotikatherapie treffen.

Beim MALDI-TOF-Verfahren erfolgt die Analyse direkt nach dem Auftragen der Keime und Übersichtung mit der Matrix auf einen Objektträger oder eine Mikrotiterplatte (Shimadzu) bzw. einen Metallträger (Bruker). Bestimmt werden dabei in erster Linie die Muster kleiner ribosomaler Proteine im Molekulargewichtsbereich von 2 bis 20 kDa. Das PLEX-ID System (Abbott) kommt dagegen ganz ohne vorherige Kultur aus, so dass direkt die Patientenprobe zur Analyse eingesetzt werden kann. Nach DNA/RNA-Aufreinigung und PCR-Amplifikation werden im ESI-TOF Nukleinsäuremuster analysiert. Neben einem breiten Erregerspektrum können so auch Viren typisiert werden (s.S.139). Der Vollständigkeit halber erwähnt sei die SELDI-Technologie von *Bio-Rad*, die auch große Proteine bis 200 kDa erkennt, aber bislang nur für Forschungszwecke verwendet wird. Auch wenn herkömmliche Verfahren nie völlig ersetzbar sein werden, kann man den neuen Technologien schon heute eine große Zukunft vorhersagen.



Dr. med. Nina Wantia
Institut für Med. Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene, TU München
nina.wantia@lrz.tu-muenchen.de

	Hersteller	Abbott Molecular Wiesbaden	Bruker Daltonik Bremen	Shimadzu Biotech Duisburg
	System	PLEX-ID 	MALDI Biotyper 	Axima@Saramis 
Allgemeines	Ansprechpartner	Dr. Birgit Reinhardt Abbott GmbH & Co. KG Tel. +49 (0)6122/58-2262 E-Mail birgit.reinhardt@abbott.com	Dr. Guido Mix Bruker Daltonik GmbH Tel. +49 (0)421/2205-307 E-Mail mix@bdal.de	Dr. Klaus Bollig Shimadzu Deutschland GmbH Tel. +49 (0)203/7687419 E-Mail kbo@shimadzu.de
	Web-Info	www.ibisbiosciences.com	www.maldibiotyper.com	www.shimadzu.de
	Einsatzgebiete	klinische Diagnostik, Forensik, Bioabwehr, Biopharma, öffentliche Gesundheit	med./veterinärmed. Diagnostik, Lebensmittel-/Umweltanalytik, mikrobiologische Forschung	med./veterinärmed. Diagnostik, Umwelt-/Lebensmittelanalytik, mikrobiologische Forschung
	Wartung	Hotline, zwei Wartungen / Jahr, AbbottLink ab Version 2	Fernwartung, Hotline Mo-Sa (Reaktionszeit 48 h)	Hotline, Fernwartung, Servicebesuche
Systemdaten	Technologie	PCR + ESI-TOF-Massenspektrometrie (Dualsprayer)	MALDI-TOF Massenspektrometrie	MALDI-TOF Massenspektrometrie
	Analytklasse	DNA, RNA	Peptide und kleine Proteine	Peptide, Proteine, Lipide, Polymere, DNA, RNA
	Gerät: Breite x Tiefe x Höhe (cm), Gewicht (kg)	207 x 84 x 216 (freistehend), 907	51 x 68 x 135 (Tischgerät), 125 75 x 83 x 192 (freistehend), 340	70 x 85 x 192 (freistehend), 330
	Testformate	Mikrotiterplatten 96	MALDI-Targets 54 x 36 mm und 108 x 72 mm mit 24, 96 und 384 Messpunkten	Mikrotiterplatten 96 und 384, mikroskop. Objektträger (MOF) 48 Punkte x 4 auf einem Adapter
	Umgebungsanforderungen	15°-30°C, 15%-75% Luftfeuchte	10°-30°C, 15%-85% Luftfeuchte	18-26°C, < 70% Luftfeuchte
	Zulassung	CE-IVD ab Nov. 2009, FDA 2010	IVD 98/79/EG	CE, CE-IVD im Q2 2010
	Sonstige regulatorische Aspekte	ISO 9001 und 13485	DACH-Akkreditierung, ISO 9000ff und 13485	DACH-Akkreditierung, ISO9001:2000
	Leistungsdaten, Arbeitsablauf	Präparation	automatisierte DNA/RNA-Aufreinigung, PCR-Amplifikation und Entsalzung	Transfer von Platte auf Metallträger, Übersichtung mit Matrix, bei ca. 10% Extraktion notwendig
Messung und Auswertung		vollautomatische ESI-TOF MS der PCR-Produkte, Berechnung von Basenprofilen aus der Masse und Identifizierung durch Datenbankvergleich	vollautomatische Messung und Auswertung, Ähnlichkeitsvergleich mit Referenzbibliothekinträgen, unabhängiger Ergebnisabruf	automatische Direktmessung, automatische Auswertung in der Datenbank und Weitergabe an Laborinformationssystem (LIS)
Maximaler Durchsatz		300 Proben / Arbeitstag (8 h)	180 Proben / Stunde	120 Proben / Stunde
Erstes Ergebnis nach		1 h (inkl. Entsalzung) bzw. 6 h (inkl. Extraktion und PCR)	30 Min. (inkl. Präparation von 96 Proben)	10 Min. (inkl. Präparation)
Messzeit		ca. 4,5 Min. pro PCR-Probe	30 Sek. pro Targetposition	30 Sek. je Probe
Datenverarbeitung	Datenbankinhalt (Anzahl Spezies)	> 750.000	1.900*	2.200*
	Erregerspektrum	Viren, Bakterien, Pilze**	Bakterien, Pilze**	Bakterien, Pilze**
	Datenübertragungsformate	TCP/IP-Ethernet, ASTM, pdf, txt, FTP	Ethernet, csv, ASTM, HTML	Ethernet, LIS-Files
	LIS-Anschluss	unidirektional	bidirektional	unidirektional
	Proben-/Patienten-ID	online und manuell, Barcodeunterstützung	online und manuell, Barcodeunterstützung, Excel- und Textdateien	online und manuell, Barcodeunterstützung, Exceldateien
Besonderheiten	Gleichzeitige Detektion auch mehrerer und unbekannter Erreger ohne vorherige Kultur direkt aus der Patientenprobe, Genotypisierung, DNA-basierte Resistenz- und Virulenztestung, Markteinführung Ende 2009 (s.S. 142)	Interaktionsfreie Messung und Datenauswertung, automatisches Datenbank-Backup, Software unterstützt CFR 21 Part 11, IQ-, OQ- und PV-Optionen, Integration mit zahlreichen Fremdsystemen (s.S. 143)	Superspektren auf Basis von Referenzspektren (s.S. 142), dezentrale Probenpräparation und Auswertung, Hotline zur Datenauswertung Mo-Sa; Remote-Unterstützung, an Fremdsysteme anpassbar	

Die Tabelle basiert auf Herstellerangaben und erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und Richtigkeit.

* vom Anwender erweiterbar

** Hefen, Spross- und Fadenpilze

Axima@Saramis

Kein Märchen

Superspektren fassen spezifische Signale eines Keims aus unterschiedlichen Isolaten zusammen und verbessern so die Sicherheit der Zuordnung.

Axima und Saramis sind trotz ihrer poetischen Namen keine Märchengestalten aus Tausend und eine Nacht, sondern zwei Hightech-Produkte des 21. Jahrhunderts: ein MALDI-TOF-Massenspektrometer und eine Datenbank, basierend auf 40.000 Einzelspektren verschiedener Keimisolate. Märchenhaft erscheint im Rückblick allenfalls, dass im Jahr 2000 ein kleines Spin-Off-Unternehmen der TU Berlin auszog, um die Mikrobiologen das Data Mining zu lehren und damit einen durchschlagenden Erfolg erzielte. Heute werden Axima und Saramis von Shimadzu, einem der größten Analysengerätehersteller der Welt vertrieben.

Saramis steht für *Spectral ARchiving And Microbial Identification System*. Das Besondere an dieser Datenbank ist, dass die spezifischen Signale eines Keimtyps aus unterschiedlichsten Isolaten zu Superspektren zusammengefasst sind und so die Zuordnung unabhängig machen von Matrixeffekten, Eigenheiten eines Isolats oder Subtypen. Daten aus Referenzlaboren, Krankenhäusern,

Stammkultursammlungen etc. wurden zu etwa 2000 solcher Superspektren zusammengefasst. Falsch positive Signale werden auf diese Weise nahezu ausgeschlossen, und die Identifizierungsraten steigen auf bis zu 98%. Innerhalb von nur einer Minute identifiziert die auf Dendrogrammen basierende Software die molekularen Fingerabdrücke von gram-positiven und gram-negativen Bakterien, Hefen und anderen Pilzen sowie ihren Sporen.

Zur sicheren Identifizierung trägt auch das Massenspektrometer selbst bei. Das günstige Signal-Rausch-Verhältnis von Axima Assurance sorgt für stabile und eindeutig differenzierbare Signale und erweitert das Massenspektrum über den Bereich von 10 kDa hinaus. So werden neue Makromoleküle für die Charakterisierung erschlossen.

Erwähnenswert sind schließlich die Flexi-Mass-Probenräger, die bis zu vier Targets mit je 48 oder 384 Proben getrennt aufnehmen können. Dies wird von Kunden häufig als großer Vorteil für den internen Arbeitsablauf genannt, weil es die Setup-Zeit senkt und die Walk-away-Zeit verlängert.

Dr. Klaus Bollig
Shimadzu Deutschland
kbo@shimadzu.de



MALDI-TOF mass spectrometer
AXIMA@SARAMIS

Don't wait, just see

AXIMA@SARAMIS combines best hardware and software to identify gram-positive and gram-negative bacteria, yeast, fungi and spores. It takes just one minute to get a highly precise analysis – don't wait, just see.

Unrivalled recovery rate – up to 98 % hit rate in clinical microbiology routine diagnostics of microorganisms

Easy-to-use system – revolutionizing daily routine in analytical and diagnostic laboratories

Wide range of applications – in diagnostics, pharmaceutical industry, healthcare and food industry

Reduced costs per analysis – through reduced hands-on time, preselection made redundant and easy integration into laboratory workflow (LIMS)

Test AXIMA@SARAMIS – and its outstanding performance

www.shimadzu.eu

AXIMA@SARAMIS™ is a trademark of Shimadzu Europa GmbH and AnagnosTec GmbH

 **SHIMADZU**
Solutions for Science
since 1875

Shimadzu Europa GmbH

Tel.: +49 (0)203-7687-0 · Fax: +49 (0)203-766625 · Email: axima@saramis.eu

PLEX-ID: Innovationspreis 2009

Am 17. September 2009 zeichnete das Wall Street Journal die in dieser Ausgabe vorgestellte ESI-Technologie von Abbott mit dem Technologie-Innovationspreis 2009 in Gold aus. Silber ging an Touch Bionics für die künstliche Hand *iLimb*.

Die Juroren bewerteten die rund 500 Bewerbungen erstmals nicht nur danach, ob es sich um bahnbrechende Neuheiten handelte, sondern auch, ob sie in wirtschaftlich schwierigen Zeiten wirklich nützlich sind. Besondere Würdigung erfuhr das System dafür, dass es Viren, Bakterien und Pilze ohne vorherige Kenntnis des Keims identifiziert, dass es ohne vorherige Anzüchtung auskommt und dass es Tausende von Analysen simultan ausführen kann.

Aus dem Originaltext spricht nicht nur die Technologiebegeisterung der Juroren, sondern auch Sorge: „Die Detektive der Medizin dürften es künftig leichter haben. Wie schwierig ihre Arbeit ist, wird jedesmal deutlich, wenn eine neue Infektionskrankheit um den Erdball schwappt... Das System verspricht nicht nur, Gesundheitsbehörden vor neuen Krankheitskeimen zu warnen, sondern auch besseren Schutz vor Bioterrorismus zu bieten und in Krankenhäusern antibiotikaresistente Bakterien zu erkennen... Im Frühjahr half das Gerät dem Naval Research Center in San Diego bei der Aufklärung der ersten Schweinegrippefälle in den USA.“

gh

Gut eingebettet

Sowohl Anwender als auch Anbieter von kommerziellen IT- und Automatisierungssystemen haben den MALDI Biotyper von Bruker erfolgreich in bestehende Laborumgebungen integriert.

Arbeitsabläufe für die Identifizierung von Mikroorganismen müssen unter Routinebedingungen sicher zu handhaben und in etablierte Laborprozesse integrierbar sein. Das ist leichter gefordert als umgesetzt, da es den standardisierten Prozess gar nicht gibt: So verfügen Labore über unterschiedliche Systeme zur Resistenzmessung, es werden diverse Laborinformations- und Expertensysteme eingesetzt, es gibt zentrale und dezentrale Ablese- und Arbeitsplätze sowie papierlose und papierbasierte Informationsübertragungswege.

Arbeitsabläufe

Von Bruker entwickelte Arbeitsanweisungen lassen sich in kürzester Zeit vom Anwender erlernen. Für die Qualitätskontrolle und eine effektive Probenpräparation werden sowohl ein Bakterienstandard zum Optimieren des Systems als auch eine vorportionierte MALDI Matrix zur Verfügung gestellt.

Frau Dr. Wantia (TU München) führt aus: „Die Einarbeitungszeit zur Routine-diagnostik dauert ca. eine Woche und die Mitarbeiter sind gut motivierbar, da die Bedienung relativ einfach ist und die Ergebnisse schnell abrufbar sind.“

Datenaustausch

Äußerst flexibel kann beim MALDI Biotyper der Import und Export von Proben- und Patientendaten an die Anforderungen eines Labors angepasst werden. Ein integriertes „Bewertungssystem“ entscheidet automatisch gemäß vom Anwender festgelegten Kriterien, welche Ergebnisse direkt an das Laborinformationssystem (LIS) übermittelt werden und welche vorab zu validieren sind. Entsprechende Lösungen wurden sowohl bei laborintern entwickelten LIS Systemen realisiert, zum Beispiel im Labor Limbach, Heidelberg, und am Max von Pettenkofer Institut, München, als auch mit kommerziellen LIS-Anbietern wie Medat im Labor Becker, Olgemöller und Kollegen in München und Swisslab am Uniklinikum Heidelberg.

Es sind Einbindungen in LIS Systeme wie GLIMS und MOLIS erfolgt, weitere Integrationen befinden sich in der Vorbereitung. Bei Prof. Olgemöller wurden über die effektive Server/Client Struktur der MALDI Biotyper Software fünf mikrobiologische Ablese- und Arbeitsplätze für mehr als 1.000 Proben am Tag derart eingebunden, dass die Mitarbeiter die Zuordnung von Proben- und Patientendaten zu jedem einzelnen Target-Analyse-Punkt auf dem Probenträger über das Intranet an das zentral aufgestellte MALDI System übermitteln können. Vom fertig präparierten Target wird der jeweilige Messauftrag über einen Barcodescanner zur Abarbeitung ans Gerät übermittelt.

Durch die Server/Client-Struktur kann man die Vorteile der schnellen und akkuraten MALDI-TOF Identifizierung auch über Laborgrenzen hinweg nutzen: Über eine intelligente Logistik werden mit Proben belegte MALDI Targets von kleinen Laboren an Zentrallabore zur MALDI Biotyper Analyse transportiert.

Integration

Die Übertragung von Spezies-Identifikationen an AST-Systeme anderer Anbieter stellt technisch kein Problem dar. Eine voll-integrative Lösung für MALDI Biotyper und Microscan (Siemens) besteht über das „HighFlexx“ Software Modul. Hierüber werden ID und AST Daten in einem Expertensystem zusammengeführt.

Eine direkte Einbindung der MALDI Biotyper Ergebnisse ist auch in das Expertensystem für den Micronaut (Merlin) möglich. Bei den AST Systemen von Biomerieux (Vitek-Serie) und Becton Dickinson (Phönix) werden die Identifikationsergebnisse des MALDI Biotypers über die LIS Software des Labors an die jeweiligen Expertensysteme übergeben. Voraussetzung dafür ist eine Umsetzungstabelle, die die von den jeweiligen Systemen verwendeten Spezieskürzel mit denen vom MALDI Biotyper verknüpft. Diese Vorarbeiten sind in vielen Laboren abgeschlossen.

Vollautomation

Derzeit werden spannende Konzepte voll-automatisierter Arbeitsabläufe vom Probeneingang bis zur Befundübermittlung von Mikrobiologen intensiv und kontrovers diskutiert. In sorgfältigen Prozessanalysen hat die Firma Kiestra (Niederlande) sehr eindrucksvoll aufgezeigt, dass die Proben- und Abarbeitungswege oft wenig effektiv sind. Mit einem mo-



Durch intelligente IT-gestützte Einbindung lässt sich der MALDI Biotyper in jeweilige Laborstrukturen und -abläufe einfach einbinden.

dularen Automationssystem will Kiestra hier Abhilfe schaffen. Unter dem Konzept „It’s the sample that moves!“ werden die Proben auf Förderbändern zu den Arbeitsplätzen transportiert, automatisch auf die Nährmedien ausgestrichen und bebrütete Platten per Bildverarbeitung interpretiert. Durch den modularen Aufbau kann das Kiestra Konzept zusammen mit dem MALDI Biotyper in Laboren aller Größen umgesetzt werden.

Darüber hinaus soll in einem Pilotprojekt die grundsätzliche Realisierbarkeit eines 24/7 unbeaufsichtigt operierenden Mikrobiologie-Labors aufgezeigt werden. Ein fehlendes Modul dazu ist ein „Koloniepicker“ (Markteinführung 2010), der automatisiert Kolonien von einem Medium auf das MALDI Target überträgt.

Schließlich hat die Firma Tecan, basierend auf Arbeiten von Bruker, eine automatisierte Probenvorbereitung entwickelt, die Messaufträge an den MALDI Biotyper übergibt und bidirektional mit der LIS Software kommuniziert.

Dr. Guido Mix
Bruker Daltonik
guido.mix@bdal.de

Neuer Influenza-H1N1 Test



Schnell und zuverlässig

Im September stellte QIAGEN einen hoch sensitiven und spezifischen real-time PCR Test zum Nachweis von Influenza A/H1N1 zur Überwachung der Schweinegrippe-Pandemie vor.



QIAGENS neuer *artus* Influenza/H1N1 RT-PCR Test erlaubt sowohl einen hochempfindlichen als auch spezifischen Nachweis des neuen Influenza A/H1N1 Virus, das die sogenannte Schweinegrippe auslöst, sowie aller anderen bisher bekannten Influenza A- und B-Stämme. QIAGENS Produktportfolio wird durch diesen Test für Screening und Überwachung der neuen Influenza entscheidend erweitert. Er wurde sowohl für Regierungen und Gesundheitsbehörden, aber auch für staatliche und private Diagnostiklabore

als Beitrag zum weltweiten Kampf gegen die Pandemie entwickelt.

Der Test liefert exakte Ergebnisse bereits nach ca. 40 Minuten. Gegenüber vielen herkömmlichen molekularen Verfahren und den meisten antigenbasierten H1N1-Tests, die teilweise erst nach mehreren Stunden die ersten Ergebnisse liefern, bedeutet dies einen erheblichen Fortschritt.

Im Vergleich zu Protein-Schnelltests zeichnet sich der neue QIAGEN-Test durch eine wesentlich höhere Empfindlichkeit aus. Zudem können auch andere Infektionen mit Influenza A- und B-Stämmen zuverlässig bestimmt werden,

die während einer neuen Grippesaison auftreten und sich in der Bevölkerung rasch ausbreiten können. Die kurze Testdauer von nur ca. 40 Minuten ermöglicht die unverzügliche Rückmeldung der Testergebnisse, was im Falle eines Ausbruchs von entscheidender Bedeutung ist.

Der Test wurde für den automatisierten Einsatz auf dem Thermo-Cycler RotorGene Q, QIAGENS 5-Kanal real-time PCR Instrument, entwickelt und ist auch mit anderen laborüblichen Plattformen kompatibel.

Neben dem neuen *artus* Influenza/H1N1 Test bietet QIAGEN weitere Lösungen u.a. für die Resistenztestung (Tamiflu/Oseltamivir), um nicht nur die Ursache grippeähnlicher Symptome zuverlässig einzuengen, sondern auch möglichst schnell wirksame Gegenmaßnahmen einleiten zu können. Angesichts der bevorstehenden Grippesaison und einer sehr wahrscheinlichen Influenza A- und B-Grippewelle ist dieser Punkt entscheidend, um der weiteren H1N1-Ausbreitung entgegenzuwirken.

QIAGENS Spektrum praxisnaher Komplettlösungen für die Überwachung der H1N1-Pandemie ist breit. Es beinhaltet zwei real-time PCR-basierte Screeningtests, einen Multiplex-Test, der zahlreiche pathogene Stämme in einem einzigen Durchlauf identifizieren kann sowie Protokolle für die Resistenzbestimmung.

Zu dieser Komplettlösung aus einer Hand gehören auch individuelle Reagenzien für die Probenvorbereitung, Enzyme sowie eine Laborausstattung für Protokolle nach den Standards internationaler Gesundheitsbehörden wie WHO und Center for Disease Control and Prevention (CDC).

QIAGENS Produktpalette leistet somit einen entscheidenden Beitrag zur weltweiten Bekämpfung der H1N1-Pandemie.

Dr. Birgit M. Jehn, QIAGEN GmbH
Birgit.Jehn@qiagen.com

Zwischen Labor und Bildung

Das Forum MedTech Pharma beschäftigte sich auf seiner Septembertagung in München mit einem Phänomen, das ganz unübersehbar den Zeitgeist in Medizin und Biowissenschaften widerspiegelt: Die zunehmende Verschmelzung von in-vitro- und in-vivo-Techniken (siehe auch S.130 und 146 in dieser Ausgabe).

Ergebnisse aus der Grundlagenforschung haben in den letzten Jahren zu einem verbesserten Verständnis der molekularen Veränderungen bei pathologischen Vorgängen in der Zelle geführt. Dabei spielte die Visualisierung chemischer Prozesse mit optischen Methoden eine entscheidende Rolle. Die konventionelle Trennung der beiden Welten führt zum Tunnelblick, der nur einen Ausschnitt aus dem Gesamtbild erlaubt. So werden häufig nur Symptome erfasst, die spät im Krankheitsverlauf auftreten.

Die Hoffnung der Forscher und Mediziner, so der Organisator der Tagung, Dr. Ilja Hagen, liege darin, durch geschickte Kombination vor allem bei chronischen Prozessen wie Krebs oder Degeneration die Früherkennung zu verbessern. Der Einführungsvortrag von Prof. Paul Cullen, Münster, widmete sich diesem Thema und wurde zum Anlass für unsere Titelgeschichte über Molekulardiagnostik.

Aus dem Programm Labortests

- C. Reschreiter, M. Jaquemar, Anagnostics: Infektionsdiagnostik mit einem Biochip-PCR-Hybridverfahren (OnSpot PCR)
- L. Fritsche, Dr. B. Fiebig, Universität Regensburg: Chip-basierte Diagnostik retinaler Erkrankungen

- Dr. G. Bared, Scenion: Elektrische Biochips als Alternative zur Fluoreszenz

Bildgebungsverfahren

- Dr. A. Walch, Helmholtz-Zentrum München: Bildgebende Massenspektrometrie in Geweben
- Dr. O. Prante, Universität Erlangen: Glycopeptid-Radiopharmaka für die Angiogeneseforschung mit PET
- Dr. N. Hansen, Karl-Storz: Früherkennung des Harnblasenkarzinoms mit Fluoreszenz-Endoskopie



Weitere Informationen:
www.medtech-pharma.de

Dr. Hilmar Luthe*, Institut für Klinische Chemie der Universität Göttingen
 Prof. Dr. Egbert Herting, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universität Lübeck

Blutentnahme bei Neugeborenen

Problemstellung

Blutverluste durch Labortests sind bei Neugeborenen eine häufige Ursache von Anämien. Bei Frühgeburten kann das Volumen, das während eines Aufenthalts auf der Intensivstation entnommen wird, sogar den gesamten Blutvorrat des Körpers übersteigen. Hauptproblem ist das Totvolumen im Ansatzstück normaler Entnahmekanülen. Deshalb brechen Ärzte die Nadeln häufig ab, was jedoch die Probleme nicht löst.



Blutentnahme aus der Hand eines Frühgeborenen mit einer abgebrochenen Kanüle.

Wissenswertes

Bis zu 90% aller Erythrozytentransfusionen für Frühgeborene erfolgen, um den iatrogenen (d.h. durch den Arzt verursachten) Blutverlust auszugleichen. Der Inhalt eines für Erwachsene üblichen Blutröhrchens (5 bis 10 ml) entspricht rund 5 bis 15% des gesamten Blutvolumens eines Frühgeborenen. Deshalb sind auf Neugeborenen-Intensivstationen wiederholte Transfusionen kleiner Volumina von 5 bis 15 ml in relativ kurzen Zeitabständen nötig, die ein hohes Gesundheitsrisiko darstellen.

Technische Lösung



Beim Abbrechen wird die Kanüle erheblich deformiert (links). Deshalb ließen wir bei einem Hersteller für chirurgische Instrumente eine prototypische Neugeborenenkanüle ohne Ansatzstück herstellen (rechts). In einer Reihe von Experimenten bestimmten wir das Totvolumen und die Fließigenschaften der verschiedenen Nadeltypen mit Blutproben (Hkt 35% und 55%), destilliertem Wasser und einer Fettemulsion.



Es ist Aufgabe einer verantwortungsbewussten Laboratoriumsmedizin, materialsparende Blutabnahmesysteme für Frühgeborene einzusetzen. Greiner Laboratories GmbH hat den Vorschlag der Autoren aufgegriffen.

Ergebnisse

Drei handelsübliche Kanülentypen wiesen mit Wasser und Fettemulsion im Mittel Totvolumina von ca. 0,15 ml und mit Blut bis zu 0,2 ml auf. Nach dem Abbrechen der Nadeln sank dieser Wert auf unter 0,01 ml ab. Ein Totvolumen nahe Null wurde auch von der Neugeborenenkanüle erreicht. Die Flussraten waren erwartungsgemäß mit Wasser am höchsten (5,3 - 7,0 g/min) und mit Blut am geringsten (2,0 - 2,2 g/min bei Hkt 35%, ca. 1,1 g/min bei Hkt 55%).

Die Neugeborenennadel erzielte mit Wasser den besten Wert, mit den übrigen Flüssigkeiten lag sie im Mittelfeld der ohnehin nur gering streuenden Werte. Die handelsüblichen Nadeln wiesen mit Wasser und Fettemulsion vor dem Abbrechen sogar schlechtere Flussraten auf. Gerinnselbildung und Verstopfung wurden am häufigsten mit abgebrochenen Kanülen und hohem Hämatokrit beobachtet. Bei der Neugeborenenkanüle waren sie am seltensten.

Umsetzung

Die F-Kanüle von Greiner wird wie eine normale (Standard-) Kanüle angewendet. Statt der direkt mit der Kanüle verbundenen – sonst üblichen – Spritze verwendet man jedoch als Auffanggefäß für das abzunehmende Blut ein Röhrchen, in das Blut aus dem hinteren Ende der F-Kanüle eintropft.

Vorteil: Es können so nur wenige Blutstropfen von Frühgeborenen und Kleinkindern gewonnen werden. Das im Röhrchen gesammelte Blut wird dann sofort einer in-vitro-diagnostischen Untersuchung zugeführt.

Schlussfolgerung und Ausblick

Der hier beschriebene Prototyp einer Neugeborenenkanüle erzielte ähnlich geringe Totvolumina wie eine abgebrochene Nadel und war dieser in den Fließigenschaften je nach Flüssigkeitstyp gleichwertig oder überlegen. Da das Abbrechen ein Verletzungsrisiko für das Personal und ein Infektionsrisiko für das Neugeborene darstellt, empfehlen wir die Entwicklung von kommerziellen Neugeborenenkanülen mit den nötigen Schutzvorrichtungen (Bild).



Kontakt

Exklusivvertrieb durch
 Rolf Greiner BioChemica GmbH
 Bahnhofstr. 32, 65558 Flacht
 Telefon 06432/9512-0, Fax -99
 info@greiner-bio.de, www.greiner-bio.de



* Dr. Hilmar Luthe, ab 01.04.2009: LAB consulting, Göttingen, hluthe@lab-consulting.com

„In-vitro meets in-vivo“ bei der Diagnostik der Subarachnoidalblutung

Komplikationen frühzeitig erkennen

Durch die Kombination von Bildgebung und ergänzenden Labortests kann die Überwachung von Patienten mit lebensbedrohlichen Hirnblutungen deutlich verbessert werden.

Die Kombination von bildgebenden Verfahren und Labortests erzielt unter dem Schlagwort „Integrative Diagnostik“ derzeit hohe Aufmerksamkeit, wobei je nach Krankheitsbild eher in-vivo oder in-vitro Verfahren im Vordergrund stehen. Auch ein Wechsel des Schwerpunkts ist nicht selten: So hat das Troponin den Herzkateter als Goldstandard inzwischen aus den internationalen Leitlinien der Herzinfarkt-diagnostik verdrängt, doch gewinnt die Bildgebung dank hochauflösender CT-Technologien heute wieder an Boden.

Beim Schlaganfall sind dagegen CT und MRT heute auch ohne begleitende Blut- oder Liquoruntersuchungen ausreichend, um die Diagnose zu stellen. Neuere Biomarker wie Protein S100 oder neuronenspezifische Enolase sind zwar für die klinische Forschung interessant, doch scheitern diese aufwändigen Tests in der Routine am hohen Zeitbedarf bis zur Befunderstellung und den Kosten, die den Rahmen der DRG-Sätze sprengen.

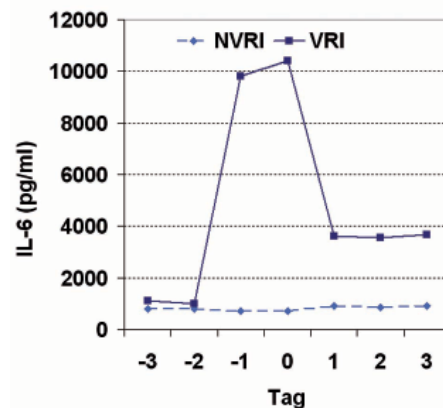
Integrativer Ansatz

Ein Grenzfall integrativer Diagnostik ist die Subarachnoidalblutung (SAB), da hier zwar die Bildgebung wie beim Schlaganfall an erster Stelle steht, aber gezielte Labortests wie Interleukin 6 (IL-6), Glucose, Laktat und Protein im Liquor in der Verlaufskontrolle sinnvoll zum Einsatz kommen können. Dieses Krankheitsbild wird an der Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie der Universität Essen pro Jahr etwa 120 mal behandelt. Ursache ist meist das Platzen einer Aussackung (Aneurysma) an den Hirnbasisarterien.

Es kommt zum plötzlichen Austritt freien Blutes in den mit Liquor gefüllten Subarachnoidalraum (spaltförmigen Raum zwischen den Hirnhäuten *Arachnoidea* und *Pia mater*), bei kompliziertem Verlauf auch zur Aufweitung der Hirnkammern und nachfolgender intracraneller Druckerhöhung. Leitsymptome sind plötzlich einsetzender schwerster Kopfschmerz, Nackensteifigkeit und Bewusstseinsstörungen. Ein nicht unerheblicher Teil der Erkrankten verstirbt vor Erreichen



Bei der Erstdiagnostik einer Subarachnoidalblutung steht die Computertomographie im Vordergrund. Für die Erkennung einer Ventrikeldrainage-bedingten Infektion (VRI) hat sich Zytokin IL-6 im Liquor bewährt: Es steigt einen Tag vor den Leukozyten (Tag 0) stark an (NVRI = keine Infektion).



einer ärztlichen Behandlung. Patienten, die therapiert werden, überleben oft nur mit Behinderungen als Folgen des Hirndrucks, einer Rezidivblutung oder eines Vasospasmus (Gefäßkrampf) mit Ausbildung von Infarkten des Gehirns.

Bei der Erstdiagnostik steht die Bildgebung mit cranialer Computertomografie (CCT) und CT-Angiographie ganz im Vordergrund. Kann der Nachweis einer Blutung in den Subarachnoidalraum damit nicht geführt werden, dann wird an erster Stelle eine Lumbalpunktion zum mikroskopischen Nachweis von Blutzellen im Liquor durchgeführt, nur in Spezialfällen ein Kernspintomografie. Für das Auffinden der Blutungsquelle ist die digitale Subtraktionsangiographie zum Nachweis des rupturierten Aneurysmas der Goldstandard.

Ist die Diagnose gestellt, dann erfolgt der Verschluss der Blutungsquelle mittels Clip (neurochirurgische Operation) oder Coil (neuroradiologische, endovaskuläre Intervention). Die Verlaufskontrolle unterscheidet sich entsprechend dem gewählten Verfahren: Bei geclippten Patienten wird in der Folge ein CCT und eine Angiographie, bei gecoilten Patienten eine MRT-Verlaufskontrolle durchgeführt.

Für die Erkennung von Komplikationen steht an erster Stelle die engmaschige klinische Untersuchung mit Beurteilung der Bewusstseinslage sowie der neurologischen und /oder neuropsychologischen Ausfallssymptomatik. Zudem werden innerhalb der ersten zehn Tage tägliche

transcranielle dopplersonographische Untersuchungen durchgeführt, um bei Anstieg der mittleren Flussgeschwindigkeit einen Vasospasmus zu erkennen.

Als neuere Möglichkeit bietet sich, sofern eine Drainage in den Ventrikelräumen einliegt (mehr als 50% aller Patienten benötigen eine Drainage), die IL-6-Bestimmung im Liquor an. Wenn dieses Zytokin innerhalb der ersten fünf Tage auf Werte über 2700 pg/ml ansteigt, liegt ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Vasospasmen vor. Somit trägt IL-6 dazu bei, gezielte Maßnahmen zur Überwachung und gegebenenfalls Therapie dieser gefährlichen Komplikation zu ergreifen.

Die einliegende Ventrikeldrainage stellt ein erhöhtes Risiko für eine Infektion des Liquorraumes dar. Die tägliche Bestimmung von Liquor-Zellzahl, -lactat und -protein sowie die regelmäßige mikrobiologische Untersuchung des Liquors gehören zur infektiologischen Überwachung. Durch die zusätzliche Messung von IL-6 im Liquor ist es mittlerweile möglich, früher als es mit üblichen Parametern erkennbar wäre, eine Liquorrauminfektion ein- oder auszuschließen: IL-6-Werte über 4050 pg/ml zeigen mit hoher Sensitivität und Spezifität einen Liquorrauminfekt an.

Priv.-Doz. Dr. Beate Schoch
Neurochirurgische Klinik
Universitätsklinikum Essen
beate.schoch@uni-essen.de

Probenarchivierungssysteme erleichtern den Laboralltag

Kopf frei für andere Arbeiten

Selbst in modernen Laboren werden Proben oftmals noch manuell archiviert und verwaltet. Dabei steht eine Reihe von hochentwickelten Systemen zur Verfügung, die diese Routinejobs vollautomatisch machen und so Personalkapazitäten für wichtigere Aufgaben freischaufeln. Eines davon stellte Roche bei der Euromedlab in Innsbruck vor.

Das österreichische Bundesland Tirol ist gemeinhin eher für seine beeindruckende Bergwelt bekannt denn als Schauplatz für Events und Kongresse. Vom 7. bis 11. Juni jedoch war seine Hauptstadt Innsbruck Kulisse für die größte Tagung, die je hier ausgetragen wurde.

Nach Großstädten wie Paris, Amsterdam und Berlin bot die Stadt mit rund 120.000 Einwohnern die Infrastruktur für den alle zwei Jahre stattfindenden „European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine“ (Euromedlab). Neben der Teilnahme an Fachtagungen mit dem Schwerpunktthema „chronische nicht-übertragbare Krankheiten“ (Herzerkrankungen, Schlaganfall, Diabetes u.a.) konnten sich die rund 3.500 Besucher auf 4.000 Quadratmeter Ausstellungsfläche die labordiagnostischen Neuheiten demonstrieren lassen.

Dazu zählte neben dem Hochdurchsatzsystem cobas 8000 modular analyzer für die Klinische Chemie und Immunologie auch ein neues System zur automatisierten Probenlagerung und -verwaltung: cobas p 701. In der Mehrzahl der Laboratorien wird die Probenarchivierung nach wie vor manuell durchgeführt. Das Verschließen der Proben, Zuordnen und Speichern einer Archivierungsposition sowie Überwachen der Probenlagerungszeiten gehören dabei zu den Standardaufgaben. Diese Routinejobs ebenso wie das Herausuchen von Proben für Nachforderungen sind teilweise mit erheblichem Aufwand verbunden.

Damit qualifiziertes Laborpersonal in Zukunft mehr Kapazitäten frei hat für andere Aufgaben, bringt Roche im 4. Quartal 2009 zwei Systeme zur automatisierten Lagerung und Bereitstellung von barcodierten Primär- und Sekundärgefäßen auf den Markt. Während cobas p 501 auf eine Lagerkapazität von knapp 14.000 Rörchchen ausgerichtet ist, können mit cobas p 701 fast 28.000 Rörchchen in einem

gekühlten Bereich bei 4-8°C verwaltet werden. Die Größe der Gefäße kann dabei variieren. Die Rörchchen werden dem System über 5-er Racks oder Tablettts mit einem Fassungsvermögen bis zu 150 Proben zugeführt. Ein Kamerasystem prüft, ob die Rörchchen offen oder geschlossen sind. Offene Probenrörchchen werden automatisch vom System mit einem Stopfen verschlossen. cobas p 501/701 setzt die Proben in spezielle Lagerungsracks mit hoher Packungsdichte und transportiert sie in den Kühlbereich. Das ermöglicht die Lagerung einer Vielzahl von Proben auf engem Raum. Die leeren 5-er Racks werden dabei nach Nummernkreisen sortiert in Ausgabefächern dem Anwender wieder zur Verfügung gestellt.

Technische Besonderheiten

Zu den technischen Besonderheiten der Geräte gehört nicht nur die Kameraüberwachung der Probenverschlüsse. cobas p 501/701 identifiziert die Probenrörchchen vollautomatisch und weist ihnen die vom Kunden definierte Lagerungszeit sowie den Lagerplatz zu. Wird die Lagerzeit überschritten, verwirft das System die Proben eigenständig. Die Information über den Lagerplatz und alle weiteren Daten über die Probe können jederzeit entweder aus dem LIS oder direkt am System abgerufen werden. Verschiedene Datensicherungssysteme machen dies möglich.

Eine weitere Besonderheit ist die offene Konstruktion der Systeme: Der Anwender kann sie sowohl als stand-alone Systeme verwenden oder an das Präanalytiksystem Modular Pre-Analytics von Roche anbinden. Die Proben werden nach der automatisierten Präanalytik direkt dem Lagerungssystem zugeführt. Dies fördert ein flexibles Labormanagement und entbindet Personalkapazitäten für andere Aufgaben.

Hohe Sicherheit

cobas p 501/701 zeichnet sich in mehrfacher Hinsicht durch hohe Sicherheit aus:

- Ein mögliches Infektionsrisiko des Laborpersonals beispielsweise ist durch die automatisierte Lagerung und Verwaltung der Proben praktisch ausgeschlossen.
- Das Wiederauffinden einer Probe z. B. für Nachforderungen ist gewährleistet: Sie kann über das LIS-System oder auch manuell angefordert werden. Das System transportiert die Probe dann vollautomatisch aus dem Kühlbereich, öffnet sie und gibt sie in 5-er Racks aus.
- Der Anwender hat jederzeit Zugriff auf die Proben, auch wenn das Gesamtsystem ausfallen sollte, denn im begehbaren Kühlbereich können die Proben bei Bedarf manuell entnommen werden.

Insgesamt bietet die automatische Probenlagerung und -Verwaltung mit cobas p 501 und cobas p 701 eine sichere und zuverlässige Probenarchivierung mit geringem Personalaufwand.



cobas p 701

Wienhilde Pruin
Roche Diagnostics GmbH, Mannheim

Kontakt: Dr. Monika Mölders
Leiterin Kommunikation Mannheim
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116, 68305 Mannheim
Tel. 0621/759-8743
monika.moelders@roche.com