

Norovirus-Diagnostik für alle Fälle von R-Biopharm.

bei großen
Serienlängen:



RIDASCREEN[®] Norovirus

- 96 Elisa-Format
- einzeln teilbare Kavitäten

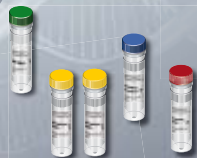
wenn's schnell
gehen soll:



RIDA[®] QUICK Norovirus

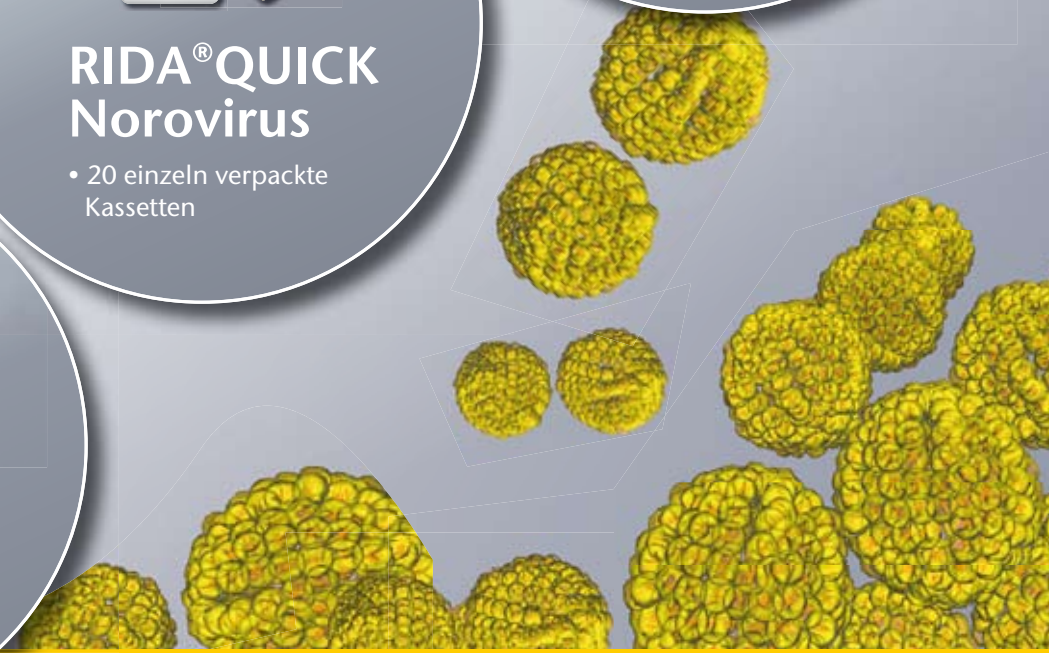
- 20 einzeln verpackte
Kassetten

zur Absicherung
oder bei erwartet
geringer Keimzahl:



RIDA[®] GENE Norovirus

- real-time RT-PCR
- 100 Bestimmungen



IM FOKUS

Ach du großes Ei

Über ungelegte Eier soll man nicht reden, auch zu Ostern nicht. Aber da nun doch allmählich erste Umrissse klar werden, wie es nach dem Regierungswechsel mit dem Gesundheitswesen in Deutschland weitergehen soll, wollen wir die vorhersehbaren Folgen für unsere Leser nicht ganz unkommentiert lassen.

Noch vor einem Monat war der Gesundheitsökonom Carlos Gebauer ziemlich ratlos, was er bei einer Fachtagung in Mainz (s.S. 62) dem Auditorium zum Thema *Die Gesundheitspolitik der neuen Bundesregierung* sagen sollte. Da er den Vortrag bereits Monate zuvor zugesagt hatte, musste er improvisieren: „Wohl niemand hätte im September ... prognostiziert, dass auch fünf Monate nach der Wahl noch immer nicht feststehen werde, in welche Richtung sich die neue Bundesregierung ... bewegen wolle. ... Der Minister selbst hat gegenüber der Presse bekräftigt, Nachhaltigkeit im System anzustreben, Gutes zu fördern, Schlechtes abzuschaffen und hat betont – offenbar im Hinblick auf Besorgnisse in Ansehung seines eigenen Berufes – kein Minister für Ärzte zu sein.“

Am 19. März nun titelte das Deutsche Ärzteblatt: *Sparpläne gewinnen an Kontur*. Das ist nichts wirklich Neues, denn Sparpläne standen schon immer im Zentrum der Gesundheitspo-

litik: Horst Seehofer deckelte die Einkommen der Niedergelassenen, Andrea Fischer knöpfte sich mit den DRGs die Krankenhäuser vor, Ulla Schmidt mit dem Gesundheitsfonds die Krankenkassen. Was Philipp Rösler wirklich plant und was davon ihm letztlich in seiner Amtszeit gelingen wird, ist noch nicht vorherzusagen; aber in der Bildzeitung ließ er mit einer ziemlich klaren Ankündigung durchblicken, wohin der Hase in der Osterzeit läuft: „Ich habe immer gesagt, dass ich hart an die Pharmaindustrie und deren Preise herangehen werde. Das mache ich jetzt.“

Ein dickes Ei, schimpfen die Hersteller erwartungsgemäß, aber für viele unserer Leser ist diese Meldung eher beruhigend. Das Gros arbeitet in den Krankenhausleitungen und den sogenannten technischen Disziplinen der medizinischen Diagnostik. Könnte es sein, dass sie in dieser Legislaturperiode einmal nicht im Fokus der ministerialen Sparpläne stehen? Und wenn es zudem stimmen sollte, dass innovative Medikamente nicht beschnitten, sondern gefördert werden sollen, dann wäre für die Diagnostik sogar ein richtig großes Osterei drin, denn die Mehrzahl der neuen „individualisierten Therapien“ darf ohne gezielte Diagnostik gar nicht verschrieben werden



Mit Blick auf den nachfolgenden Bericht aus dem Robert-Koch-Institut sei abschließend noch eine andere aktuelle Meldung kommentiert: Der Mikrobiologe und bisherige RKI-Chef Prof. Jörg Hacker wird gewissermaßen oberster Wissenschaftler der Nation, denn er steht nun an der Spitze der traditionsreichen *Leopoldina*. Sie wurde 2008 zur nationalen Akademie der Wissenschaften gekürt und hat somit bedeutenden Einfluss auf die Wissenschafts- und Innovationspolitik in Deutschland. Daraus sollten die Mikrobiologen aber nicht den Schluss ziehen, sie würden nun womöglich bevorzugt behandelt. Hacker wird ebenso wenig wie Rösler Klientelpolitik betreiben. Das haben die Mikrobiologen allerdings auch nicht nötig; Noroviren und andere Keime sorgen dafür, dass ihnen die Arbeit nicht ausgeht.

gh

SWISSLAB Laborinformationssysteme

Innovative Technologie für das medizinische Labor

www.swisslab.com



swisslab

Zum Robert-Koch-Jahr

Vor 100 Jahren starb Robert Koch. Ihm war mit der Entdeckung des Tuberkuloseerregers zum ersten Mal in der Geschichte die Identifizierung eines pathogenen Bakteriums gelungen. Dafür erhielt er 1905 den Nobelpreis.

Das wohl spektakulärste Ereignis im Leben des Forschers war die öffentliche Vorstellung des Impfstoffs Tuberkulin im Jahr 1890. Um die 5.500 angemeldeten Zuhörer unterbringen zu können, fand der Vortrag im eigens dafür umgebauten Zirkus Renz statt. Doch die Euphorie schlug rasch in Enttäuschung um, als klar wurde, dass die „Lungenschwindsucht“ durch dieses Therapeutikum nicht heilbar war. Als Reaktion auf eine Pressekampagne bat Koch 1891 um seine Entlassung aus der Universität. Das war übereilt, wie sich später herausstellte, denn der Tuberkulin-Hauttest sollte für die nächsten 100 Jahre zu einem wichtigen Diagnostikum werden. Erst moderne PCR-Tests konnten ihn im letzten Jahrzehnt ersetzen*.

Nach der Aufgabe der Professur übernahm Robert Koch die Leitung eines eigens für ihn gegründeten Königlich Preussischen Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin, das heute noch als Robert-Koch-Institut seinen Namen trägt. Das RKI ist die zentrale Forschungs- und Referenzeinrichtung des Bundesgesundheitsministeriums für Infektionskrankheiten sowie epidemiologische Register aller Art, biologische Sicherheit, Gentechnologie uvm.

Aus dem Robert-Koch-Institut stammt auch der nebenstehende Beitrag von Frau Dr. Marina Höhne, Leiterin des Konsiliarlabors für Noroviren. Das Thema Noroviren ist nicht von ungefähr gewählt, denn es rückt eine Epidemie in den Blickpunkt, die mit über 100.000 Fällen in der aktuellen Wintersaison weiterhin einen hohen Grad an Aufmerksamkeit verdient – zumindest denselben Grad wie die viel bekanntere Schweinegrippe, mit der das RKI monatelang in den Schlagzeilen war.

gh

*Tb or not Tb? *Trillium-Report* 2009 7(4):198-199



Robert Koch 1843-1910

Norovirus-saison 2009/2010

Keine Entwarnung

Zwischen 2002 und 2008 schaukelten sich die saisonalen Wellen infektiöser Brechdurchfälle im Winter immer höher auf. Die Hauptursache waren und sind Noroviren mit einer genetisch erworbenen Fitness gegen die menschliche Immunabwehr.

Wie in jedem Jahr nahmen in Deutschland seit Anfang Oktober 2009 die durch Noroviren bedingten Durchfallerkrankungen deutlich zu und erreichten im Januar einen Spitzenwert von ca. 36.000 Meldungen an das Robert-Koch-Institut (RKI). Für die nun allmählich abklingende Saison sind erneut Gesamtzahlen von über 100.000 Meldungen zu erwarten. Dabei ist die Dunkelziffer recht hoch, da nicht jeder Ausbruch einer Gastroenteritis oder jede Einzelerkrankung ärztlich oder labordiagnostisch untersucht wird.

Kurz und heftig

Die Viren sind extrem kontagiös und zeichnen sich durch hohe Umweltresistenz selbst bei Temperaturschwankungen von -20 bis $+60$ °C und Überlebenszeiten außerhalb des Körpers von zehn Tagen und mehr aus.

Nach einer Inkubationszeit von etwa zehn Stunden bis zu zwei Tagen entwickeln sich in der Regel plötzlich auftretender Durchfall und schwallartiges Erbrechen, die unbehandelt zu erheblichen Flüssigkeitsverlusten führen können. Kinder und ältere Menschen sind dabei besonders gefährdet.

Betroffen sind deshalb Alten- und Pflegeheime sowie andere Gemeinschaftseinrichtungen wie Krankenhäuser, Kindergärten oder Schulen. Am häufigsten infizieren sich Kinder unter fünf Jahren und ältere Menschen, grundsätzlich sind jedoch alle Altersgruppen betroffen.

Die Viren werden von infizierten Personen sowohl über den Stuhl als auch beim Erbrechen ausgeschieden. Eine Übertragung kann durch Schmierinfektion (von Mensch zu Mensch oder über kontaminierte Oberflächen), durch Einatmen virushaltiger Aerosole nach Erbrechen oder durch den Verzehr kontaminierter Speisen oder Getränke erfolgen. Hände- und Toilettenhygiene sowie das Tragen von Gummihandschuhen bei Reinigungsarbeiten sind wichtige Hygienemaßnahmen.

Meist besteht ein ausgeprägtes Krankheitsgefühl mit Bauchschmerzen, Übelkeit, Kopf- und Muskelschmerzen. Die Erkrankung verläuft üblicherweise kurz und heftig und klingt nach ein bis drei Tagen wieder ab. Da bisher weder ein Impfstoff noch eine kausale antivirale Therapie zur Verfügung stehen, erfolgt die Therapie symptomatisch durch Ausgleich des Flüssigkeits- und Elektrolytverlustes.

Die Mortalität ist allerdings in den entwickelten Ländern mit unter 1% gering. In der epidemischen Wintersaison 2007/2008 und 2008/2009 starben in Deutschland 76 bzw. 67 Erkrankte; in den beiden Jahren davor waren es 12 bzw. 16.

Auf dem Höhepunkt der diesjährigen Krankheitswelle stellten die heftigen Magen-Darm-Infektionen eine erhebliche Belastung für das Gesundheitswesen dar. 10 bis 100 Viruspartikel reichen zur Ansteckung aus, und da die Infektion vor medizinischem Personal nicht halt macht, können die nur etwa 35 nm (Millionstel Millimeter) großen RNA-Viren auch Arztpraxen

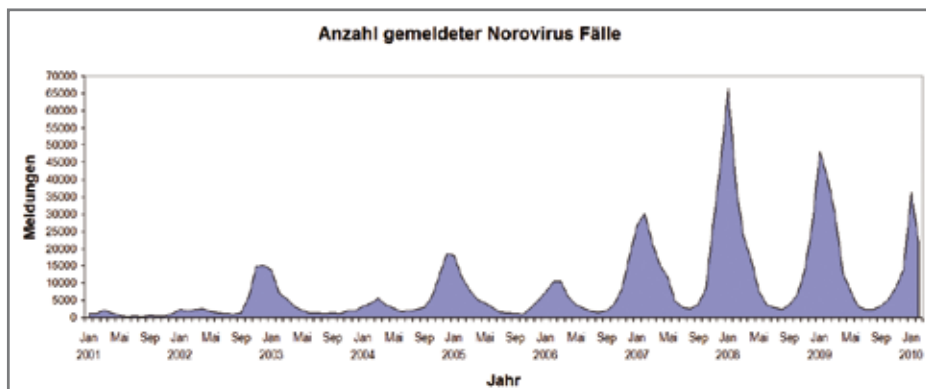
Virus-RNA mit Hilfe eines RT-PCR-Tests direkt nachweisen und auch die einfacher durchführbaren Antigen-EIA Verfahren anwenden, bei denen virale Proteine nachgewiesen werden. Detaillierte Informationen zu Labortests für die klinische Routine finden sich auf der nächsten Seite.

Vier Rekordjahre in Folge

Für epidemiologische Untersuchungen sind die Sequenzierung und die phylogenetische Analyse in verschiedenen Genomregionen wichtig. Damit gelingt eine Typisierung der in der jeweiligen Wintersaison vorherrschenden Noroviren. Sie

(27. Meldewoche) bis zur Mitte des Folgejahres (26. Meldewoche) verglichen.

Dabei zeigte sich, dass die Infektionszahlen in den vergangenen drei Winterperioden mit rund 150.000 bis 250.000 Meldungen Rekordniveau erreichten. Auch die diesjährigen Melderaten stiegen bis Anfang Februar kontinuierlich an. Von Juli 2009 bis Anfang Februar 2010 lagen knapp 83.000 Meldungen vor (siehe Abb.); das war zwar weniger als im vergleichbaren Zeitraum der Vorjahre 2008 (195.000) und 2009 (145.000), aber dennoch im Vergleich zu früheren Jahren zum vierten Mal in Folge ein klarer Hinweis auf eine Norovirus-Winterepidemie.



Norovirusinfektionen verlaufen wellenförmig mit deutlichen Peaks in den Wintermonaten. Seit dem Jahr 2002 ist ein mutiertes Virus bekannt, das dem menschlichen Immunsystem offenbar besser ausweichen kann. Der vorläufige Höhepunkt lag im Jahr 2008, aber Entwarnung kann noch nicht gegeben werden. Quelle: RKI, SurvStat, Stand: 6. Woche 2010.

und Krankenhausstationen lahm legen. In Ballungsräumen mussten die Notaufnahmen zeitweise Patienten mit anderen Erkrankungen abweisen, wenn gleichzeitig Durchfall und Erbrechen vorlagen. Zur Eindämmung von Ausbrüchen wurden Stationen gemäß den RKI-Richtlinien zeitweise für Neuaufnahmen gesperrt.

Mikrobiologisch-virologische Laboratorien hatten in dieser Zeit alle Hände voll zu tun, um durch Noroviren verursachte Gastroenteritiden von harmlosen Durchfallerkrankungen zu unterscheiden. Für die Diagnostik aus Stuhlproben kann man die

liefert auch Informationen über mögliche Veränderungen im Virusgenom, die für die Infektionsrate ausschlaggebend sein können. Die Daten werden in enger Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern auf europäischer Ebene ausgetauscht, um schnell Informationen über die Zirkulation von Norovirusvarianten in Europa und der Welt zu erhalten.

Seit dem 1. Januar 2001 sind Norovirusinfektionen nach IfSG meldepflichtig (§§ 6, 7). Da sie ihren saisonalen Gipfel in den Wintermonaten haben, werden die Meldedaten jeweils von der Mitte des Jahres

Neuer Genotyp

Erste molekular-epidemiologische Untersuchungen der zirkulierenden Noroviren zeigten, dass sich auch in diesem Winter der Genotyp II.4 als häufigste Ursache der Norovirus-bedingten Gastroenteritisausbrüche durchgesetzt hat. Dieser Genotyp zirkuliert weltweit seit Anfang der 90er Jahre und hat sich seit 2002 durch Sequenzveränderungen in seinem Kapsidprotein etwa alle zwei Jahre so abgewandelt, dass er eine höhere virale Fitness besitzt und dadurch dem Angriff des menschlichen Immunsystems immer wieder ausweichen kann. Möglicherweise hat er durch diese Strategie einen deutlichen Vorteil gegenüber anderen zirkulierenden Genotypen gewonnen und könnte somit auch in Zukunft immer wieder zu Norovirus-epidemien in den Wintermonaten führen. ❀



Dr. Marina Höhne, RKI Berlin
Tel. 030/18754-2375, Fax -2617

HoehneM@rki.de

Produktübersicht Norovirus-Tests

Rasche Aufklärung

Für den Nachweis einer Infektion stehen verschiedene Labormethoden zur Verfügung, die sich in RNA-, Antigen- und Antikörpertests gliedern lassen. Jedes Verfahren hat seine spezifischen Einsatzgebiete.

Seit dem ersten Ausbruch einer Noroviren-Epidemie (Norwalk, USA) im Jahr 1968 stellt der sehr wandlungsfähige Erreger eine diagnostische Herausforderung dar. Man kennt fünf Typen mit knapp dreißig Untertypen. Als humanpathogen sind bisher nur Vertreter aus der Genogruppe 1 (GGI) mit 8 Genotypen und aus der Genogruppe 2 (GGII) mit 17 Genotypen beschrieben.

Eine Indikation zur Norovirus-Diagnostik besteht bei Patienten mit Durchfall (mit oder ohne Erbrechen), sofern keine anderen Ursachen für die Symptome bekannt sind. Zur Einleitung von speziellen Hygienemaßnahmen - besonders bei Häufungen von Durchfall und Erbrechen in Gemeinschaftseinrichtungen, Krankenhäusern und Altenheimen - sollte frühzeitig eine Diagnose angestrebt werden. Die für stationäre Einrichtungen empfohlenen Maßnahmen bei positivem Befund finden sich auf S.51 oben.

Umgebungsuntersuchungen bei asymptomatischen Personen oder bei Patienten mit untypischer Symptomatik sind nicht indiziert. Auch Folgeuntersuchungen bis zur vollständigen Eliminierung der Noroviren aus dem Stuhl des Patienten sind in der Regel nicht erforderlich; man kann davon ausgehen, dass die Erreger auch nach dem Abklingen der klinischen Symptome noch etwa zwei bis drei Wochen mit dem Stuhl ausgeschieden werden.

Der *elektronenmikroskopische* Nachweis ist vor allem von wissenschaftlichem Inte-

resse und kann nur in entsprechend ausgerüsteten Speziallaboratorien durchgeführt werden. Durch seine geringe Sensitivität (10^7 Virusgenome/g Stuhl) und seine hohen Kosten ist er für die Routine-Diagnostik nicht geeignet.

Die größte Bedeutung unter den Routineverfahren hat die *Amplifikation* viraler Nukleinsäuren, denn sie weist unter allen Methoden die höchste Sensitivität und Spezifität auf. Zur raschen Aufklärung von Ausbrüchen und vor allem von Einzelnfektionen stellt sie heute den Goldstandard dar. Eine Reihe von Diagnostik-Laboren

ist inzwischen in der Lage, Norovirus-RNA mit in-house entwickelten Methoden oder kommerziell angebotenen PCR-Kits nachzuweisen. Leistungen, die für die molekularbiologische Identifizierung von Krankheitserregern notwendig sind, z.B. Aufreinigung von Nukleinsäuren und Amplifikation mittels RT-PCR, können inzwischen auch kassenärztlich abgerechnet werden.

Alle auf dieser Doppelseite vorgestellten Diagnostica-Hersteller bieten entsprechende RNA-Tests an – in der Regel auf Basis der real-time RT-PCR. Jedes Format

NOROVIRUS DIAGNOSTIK VON VIROTECH



Nachweis der Genogruppe I und II aus humanen Stuhlproben

RT-PCR
Smart Norovirus von Cepheid
Jetzt mit CE und allen Enzymen

AG-ELISA
IDEIA Norovirus ELISA



Genzyme Virotech GmbH
Petra Thermann
Löwenplatz 5
65428 Rüsselsheim
pt@virotech.de
www.virotech.de
Tel. 06142/6909-83

RT-PCR-Tests zum Norovirus-Nachweis (GG I + II) für alle gängigen real time PCR-Systeme: (mit CE + Roche-Lizenz):



MutaREAL/ MutaREX*
Kapillarsystem (LC1.5/2.0)

MutaPLATE/ MutaPLEX*
ABI, RotorGene, LC480, SmartCycler, Stratagene, etc.
*mit RNA-Extraktionskontrolle




Immundiagnostik AG
Dr. Wolfgang Reichert
Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim
wolfgang.reichert@immundiagnostik.com
www.immundiagnostik.com
Tel. 06251/701-900

Hygiene-Maßnahmen in stationären Einrichtungen

hat spezifische Charakteristika, die sorgfältig gegeneinander abzuwägen sind. Sowohl die Kits von Immundiagnostik als auch die von R-Biopharm können auf allen gängigen real-time Geräten durchgeführt werden, die Tests von TIB MOLBIOL sind für die weit verbreiteten LightCycler-Systeme von Roche optimiert und Genzyme VIROTECH bietet ein komplettes Kit mit lyophilisierten Reagenzien für alle real-time Plattformen an. Eine interessante Variante, die aus der Reihe der PCR-Verfahren fällt, ist der isothermale Loopamp-Test von Mast, der keinen Thermocycler und keine Denaturierung benötigt und deshalb gerätetechnisch besonders einfach durchzuführen ist.

Neben dem molekularen Norovirus-RNA-Nachweis stehen die weniger aufwändigen *Antigen-EIAs* (Enzyme Immuno Assays), z.B. von Genzyme (Hersteller Oxoid) und R-Biopharm sowie ein immunchromatographischer Antigen-Schnelltest, ebenfalls von R-Biopharm, zur Verfügung. Methodisch bedingt liegt die Nachweisgrenze von EIAs etwa drei Größenordnungen über derjenigen der RT-PCR. So können zum Vergleich mittels Nukleinsäureamplifikation etwa noch 100 bis 1.000 Virusgenome je Gramm Stuhl nachgewiesen werden, mit einem Antigen-EIA-Test müssen ungefähr 100.000 Virusgenome je Gramm Stuhl in der Patientenprobe vorhanden sein.

Insbesondere für die Beurteilung von Einzelerkrankungen sollte also der Antigen-EIA nicht die einzige im Krankenhauslabor verfügbare Methode sein, vor allem wenn davon weit reichende Entscheidungen wie die Schließung von Krankenhausabteilungen abhängen.

Ohne praktische Bedeutung sind Antikörpernachweise im Blut des Patienten, da die Serologie erst nach dem Abklingen der Symptome positiv wird. 

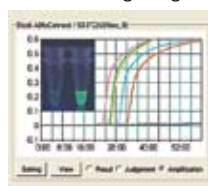
Isolierung betroffener Patienten in einem Zimmer mit eigenem WC, ggf. Kohortenisolierung und Sperre einer Station für Neuaufnahmen • Unterweisung der Patienten hinsichtlich Händedesinfektion mit einem viruzid wirksamen Händedesinfektionsmittel; Pflege der Patienten mit Einweghandschuhen, Schutzkittel und ggf. Mund-Nasen-Schutz (bei Kontakt mit Erbrochenem) • Personal: sorgfältige Händehygiene, Händedesinfektion mit einem viruzid wirksamen Händedesinfektionsmittel nach Ablegen der Einweghandschuhe und vor Verlassen des Isolationszimmers • Tägliche (in Sanitärbereichen ggf. häufigere) Wischdesinfektion aller patientennahen Kontaktflächen inkl. Türgriffen mit einem Flächendesinfektionsmittel mit nachgewiesener

viruzider Wirkung • Desinfektionsreinigung kontaminierter Flächen sofort; nach Anlegen eines Mund-Nasen-Schutzes Pflegeutensilien personenbezogen verwenden und desinfizieren • Bett- und Leibwäsche als infektiöse Wäsche in einem geschlossenen Wäschesack transportieren und in einem (chemo-thermischen) Waschverfahren bei mindestens 60°C reinigen • Verlegungen in andere Bereiche der stationären Versorgung oder zwischen Gemeinschaftseinrichtungen sollten erst 72 Stunden nach Auftreten des letzten Erkrankungsfalles aus einer von einem Ausbruch betroffenen Einrichtung erfolgen. Hiervon ausgenommen sind Patienten, die nach einer Erkrankung bereits genesen sind.

Dr. Marina Höhne, RKI Berlin

Loopamp – die Alternative zur PCR

Einfach: • isothermale Amplifikation
• keine Denaturierung
• geringer Geräteaufwand



Schnell: Nachweis innerhalb von 15-60 Minuten

Spezifisch: hochspezifische Amplifikation der Targetsequenz mit vier Primern für sechs Bindungssequenzen



MAST DIAGNOSTICA
Laboratoriumspräparate GmbH
Dr. Hans Manneck
Feldstraße 20, 23858 Reinfeld
manneck@mast-diagnostica.de
www.mastgrp.com
Tel. 04533/2007-0

Norovirus-Diagnostik – für alle Fälle von R-Biopharm

Bei großen Serienlängen: RIDASCREEN® Norovirus
• 96 Elisa-Format
• einzeln teilbare Kavitäten

Wenn's schnell gehen soll: RIDA®QUICK Norovirus
• 20 einzeln verpackte Kassettens

Zur Absicherung oder bei erwartet geringer Viruslast: RIDA®GENE Norovirus
• real-time RT-PCR
• 100 Bestimmungen



R-Biopharm AG
Helmut Leidinger
An der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt
h.leidinger@r-biopharm.de
www.r-biopharm.de
Tel. 06151/81 02 0

LightMix® Real-Time PCR Norovirus

Extrem schnelles Protokoll:

• 40 Min. mit dem LightCycler® 2.0
• 75 Min. mit dem LightCycler® 480 System
Genotypisierung GG1 und GG2 per Schmelzkurve
Semiquantitative Ergebnisse anhand der Standardreihe (10 bis 10E6); CE-IVD ab 2011
96 Reaktionen
(preisgünstige Großpackung 20 x 96)

TIB MOLBIOL Syntheselabor GmbH
Olfert Landt
Eresburgstraße 22-23
12103 Berlin
dna@tib-molbiol.de
www.tib-molbiol.de
Tel. 030/78 79 94 55



gh

cobas 4800 von Roche Diagnostics

Warum Automatisierung in der PCR-Diagnostik

Mit dem cobas 4800 System bietet Roche erstmalig eine Gerätekombination zur automatisierten Probenaufbereitung und Real-Time-PCR für die Infektionsparameter Chlamydien, Gonokokken und Humane Papillomaviren an. Wozu das gut ist?



Dr. Armin Pahl im Expertengespräch über die Automatisierung in der PCR-Diagnostik und zum cobas 4800 System bei der MEDICA 2009.

„Wir können direkt aus dem Primärgefäß arbeiten, unseren eigenen Barcode aufkleben und das Ergebnis gekoppelt an diesen Barcode in unser Informationssystem übertragen“, so Dr. Armin Pahl, Leiter der

molekulardiagnostischen Abteilung des Labors Dr. Kramer und Kollegen in Geesthacht. In seiner Praxis sei das ein wichtiger Aspekt, um Verwechslungen auszuschließen und beispielsweise der Nachfrage nach Chlamydientests besser Herr zu werden, die seit Einführung des Screenings gestiegen ist.

Da z. B. Urinanalysen nur abgerechnet werden können, wenn sie DNA-basiert sind, ist ein System wie cobas 4800, das Nukleinsäuren schnell aus unterschiedlichen Probenmaterialien isolieren und in Real-Time-PCR bestimmen kann,

mit bis zu 376 Chlamydienergebnissen pro Tag dafür gut geeignet. Ohne zusätzlichen Aufwand kann aus einer Probe parallel eine Neisserien-Bestimmung erfolgen, aber der größte Vorteil der neuen Testreagenzien sei, so Pahl, dass positive Ergebnisse nicht mehr extra bestätigt werden müssten.

Automatisierte Abarbeitung

cobas 4800 besteht aus einer Gerätekombination für die automatisierte Probenaufbereitung und Real-Time-PCR. Die erste Komponente, cobas x 480 Instrument, isoliert Nukleinsäuren aus verschiedenen Probenmaterialien in Primärröhrchen und pipettiert anschließend vollautomatisch den PCR-Ansatz in eine barcodierte Multiwellplatte.

Der Barcode enthält alle Informationen, um die PCR in der zweiten Systemkomponente cobas z 480 ohne weiteren Eingriff in die Software sofort zu starten. Das System kann außerdem an das Labor-Informationssystem angeschlossen werden. Aktuell stehen zwei Testkits zur Verfügung: cobas 4800 CT/NG und HPV.

Testprinzip

Der cobas 4800 CT/NG-Test detektiert Chlamydia trachomatis nach dem Dual Target Prinzip und bietet mehr Sicherheit bei der Erfassung genetischer Varianten. Neben den Serovaren A-K und LV 1-3 werden beispielsweise plasmidfreie Chlamydien und die so genannte Schwedische Variante erkannt.

Unfruchtbarkeit durch bakterielle Infektionen

Eine verschleppte Genital-Infektion mit Chlamydia trachomatis (CT) ist die häufigste Ursache erworbener Unfruchtbarkeit in den westlichen Industrieländern. Eine der Ursachen liegt im meist asymptomatischen Verlauf. Als Koinfektion mit Chlamydien treten bei Frauen sehr häufig Infektionen mit Neisseria gonorrhoeae (NG) auf. Die Bakterien verursachen Entzündungen verschiedener Organe und können unbehandelt zu Unfruchtbarkeit bzw. während der Schwangerschaft zu Fruchtschädigungen und Fehlgeburten führen oder beim Neugeborenen Bindehautentzündung bis zur Erblindung verursachen.

Das Humane Papillomavirus (HPV) als Auslöser des Gebärmutterhalskrebses

In den 80er Jahren gelang es dem Virologen und Nobelpreisträger Harald zur Hausen erstmals, den Zusammenhang zwischen einer HPV-Infektion und dem Gebärmutterhalskrebs (Zervixkarzinom) nachzuweisen. In Deutschland gehen Experten von rund 12-14 Neuerkrankungen pro 100.000 Frauen aus; 1.566 Frauen starben im Jahr 2007 an Gebärmutterhalskrebs (Quelle: RKI, EpidBull 32/2009). Da die Latenzzeit in der Regel 15-25 Jahre beträgt, bieten Vorsorgeuntersuchungen wie der zytologische PAP-Test und der Nachweis der so genannten high risk HPV-Typen gute Chancen zur Prävention des Zervixkarzioms.

Für die Bestimmung der *Neisseria gonorrhoeae* wurden zwei neue Primer- und Sondensets entwickelt, die in der hochkonservierten Repeat Region DR-9 sehr spezifisch amplifizieren und detektieren. Aufgrund der Multiplex-PCR ist die gleichzeitige Doppelbestimmung von Chlamydien und Neisserien aus einer Probe möglich. Außerdem müssen Urinproben nicht mehr abzentrifugiert werden, sondern können zusammen mit Abstrichproben als Primärrohre direkt in den Automaten gestellt werden.

Der cobas 4800 HPV-Test weist die Gruppe der 14 high risk Genotypen qualitativ nach und genotypisiert die im Zervixkarzinom am häufigsten auftretenden Genotypen HPV 16 und HPV 18. Die Spezifität des HPV-Testes korreliert mit



Das cobas 4800 System mit zwei Gerätekomponenten.

dem klinischen Neoplasie-Status CIN2 und schließt die Interferenz mit low risk HPV-Genotypen sowie anderen Mikroorganismen aus.

Im Lauf dieses Jahres wird das Portfolio durch einen weiteren Parameter der Mikrobiologie erweitert: mit dem cobas 4800 MRSA Advanced Test kann der

Methicillin-resistente *staphylococcus aureus* schnell, spezifisch und mit hoher Sensitivität detektiert werden. 🌸

Dr. Monika Mölders

Roche Diagnostics GmbH

Tel. 0621/759-4746

monika.moelders@roche.com

Diagnostik der Lyme-Borreliose



Die Lyme-Borreliose ist eine bakterielle Infektionskrankheit, die vorwiegend durch Schildzecken auf den Menschen übertragen werden kann. Die Tiere leben im Unterholz und Gras auf einer

maximalen Höhe von eineinhalb Metern. Nicht nur Waldgebiete sind ihr Jagdrevier. Auch in städtischen und dörflichen Fluss- oder Grünanlagen, in heimischen Gärten und vereinzelt sogar in der Wohnung (von Haustieren eingeschleppt) ist der Mensch vor Zeckenstichen nicht gefeit.

Stadien und Symptome

Eine Borrelieninfektion verläuft in drei Stadien mit fließenden Übergängen: Die lokalisierte oder frühe hämatogene Streuung führt nach Tagen bis Wochen zur charakteristischen Wanderröte, die aber auch fehlen kann, sowie evtl. zum Borrelien-Lymphozytom oder zu einer „Sommergrippe“.

Die akute Organmanifestation kann nach Wochen bis Monaten zu einer Neuroborreliose mit Lähmungen von Gesichts- und Augenmotorik, starken Rumpf- oder Extremitätenschmerzen sowie Sensibilitätsstörungen führen. Chronische Gelenkbeschwerden, neurologische Veränderungen und Hautveränderungen (*Acrodermatitis chronica atrophicans*) kennzeichnen schließlich nach Monaten bis Jahren die chronische Organmanifestation. Möglich sind auch psychische Erkrankungen, zum Beispiel Depressionen.

Diagnostik

Die Diagnosestellung einer Borrelieninfektion erfolgt grundsätzlich primär klinisch. Entsprechend den neueren diagnostischen Empfehlungen der Deutschen Borreliose-Gesellschaft e.V. sowie der International Lyme and Associated Diseases Society (ILADS/USA) wird ferner eine umfassende Labordiagnostik auf humoraler und zellulärer Ebene empfohlen.

Borrelien-Antikörper-Untersuchungen mittels EIA besitzen eine geringe Sensitivität und werden deshalb durch Borrelien IgM- und IgG-Immuno-

blot abgesichert. Da auch hier „seronegative“ Infektionen nicht auszuschließen sind, kann der extrem empfindliche ViE-Test (*Variable major protein-like sequence Expressed*) in EIA und Immunoblot mitgetestet werden. Ein einmaliger positiver Borrelien-Antikörper-Nachweis besagt nur, dass in der Vergangenheit ein Zeckenstich vorgelegen haben muss, bei dem Borrelien übertragen wurden.

Der Borrelien-Lymphozyten-Transformations-Test (LLT) gibt Auskunft über die aktuelle Aktivität und ist 20- bis 200-fach empfindlicher als ein EIA-Antikörper-Test. Die CD3-/CD57+ Zellen dokumentieren das Ausmaß der chronischen Immunsuppression bei chronischer Borreliose und sind prognostischer Faktor während und nach einer Antibiose. Therapieüberwachung und Staging auf zellulärer Ebene erfolgen vor, während und nach einer antibiotischen Therapie unter exakter Dokumentation der klinischen Symptome wie z.B. Gelenkbeschwerden.

Dr. Armin Schwarzbach

B-C-A Borreliose Centrum Augsburg

Neues Modul von Swisslab

IT-Unterstützung in der Krankenhaushygiene

Seit 2009 ist am Universitätsklinikum Heidelberg ein Hygiene-Modul im Einsatz, das die tägliche Arbeit erleichtert und interessante Zukunftsoptionen bietet.

Für die Organisation und Bearbeitung der krankenhaushygienischen Aufgaben am Universitätsklinikum Heidelberg hat die IT-Unterstützung eine lange Tradition. Da es sich aber um gewachsene Strukturen handelte, kamen in der Krankenhaushygiene, dem Sterillabor und dem Wasserlabor verschiedene Systeme zum Einsatz: Neben einer Labor-EDV von LDS mit manueller

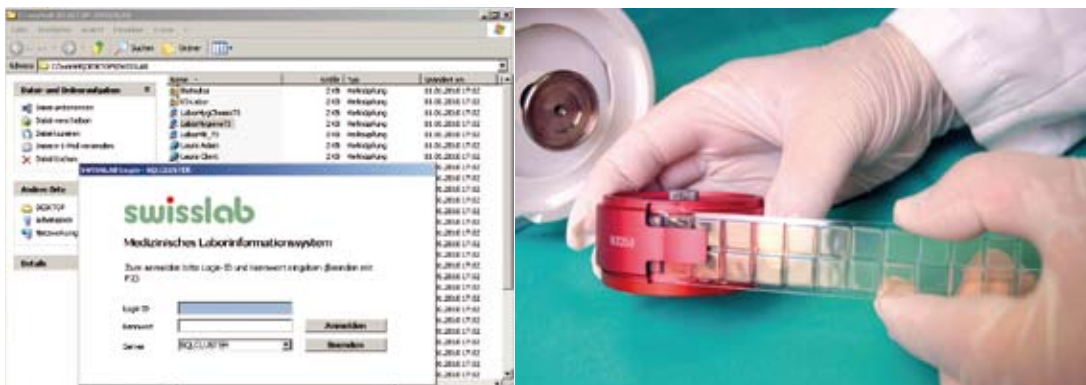
Modul zusammengeführt werden. Für die Mitarbeiter/innen in der Krankenhaushygiene war die Umstellung unproblematisch, denn sie waren mit dem Swisslab System vertraut. Andere Bereiche hatten wenig Erfahrung im Umgang mit EDV-basierten Laborsystemen, doch nach der Einarbeitungsphase ist inzwischen auch hier das Fazit positiv.

Da in der gesamten Abteilung Swisslab eingerichtet ist, eröffnet sich für die Zukunft auch die Möglichkeit, das technische Personal rotierend einzusetzen. Eine weitere attraktive Zukunftsentwicklung ist die Visualisierung der Räumlichkeiten der Klinik, um Aufenthalt und Bewegungen von Patienten mit z.B. multiresistenten Erregern darzustellen. Ein solches Werkzeug wäre hilfreich, um Ausbrüche von Infektionen rasch zu erkennen und darauf zeitnah reagieren zu können.

Ein solches Werkzeug wäre hilfreich, um Ausbrüche von Infektionen rasch zu erkennen und darauf zeitnah reagieren zu können.

In einem großen Universitätsklinikum mit hohem Patientendurchlauf und zahlreichen Verlegungen pro Tag ist ein solcher IT-gestützter Überblick sicher eine Herausforderung, die auch nicht unbedingt innerhalb der Labor-EDV realisiert werden muss. Sie kann sowohl im KIS als auch als separates Modul angeboten werden. Es sollte aber

eine Online-Übertragung der Daten aus der Labor-EDV in das Patiententracking gewährleistet sein, um Geschwindigkeit und hohe Sicherheit zu erreichen. 🌸



Alle Funktionen der verschiedenen Hygienelabore sind unter der Swisslaboberfläche vereinigt (links). Untersucht werden zum Beispiel Sammelstreifen zur Überwachung der Luftkeime in OP-Sälen (rechts).

Auftragserfassung und Arbeitslistenabarbeitung sowie einer Datenbank für die zu überprüfenden Geräte wurden auch MS Office Produkte zur Auswertung und Befundung eingesetzt. So verlief der Weg eines Auftrags von der Planung bis zum Endbefund meist über viele Hände und Handschriften mit all ihren Problemen der Eindeutigkeit und Auffindbarkeit.

Aus diesem Grund legte Prof. Heeg 2005 mit der Einführung des Swisslab Systems in Heidelberg auch Spezifikationen für eine Hygiene-Lösung fest. 2009 konnten dann zahlreiche Funktionen in einem einzigen

Vor allem die Zeitersparnis und die geringere Fehleranfälligkeit sind für alle sichtbar, und das Auffinden der anstehenden und in Bearbeitung befindlichen Aufträge mit allen Vorbefunden per Mausklick erleichtert die tägliche Arbeit ungemein. So ist zum Beispiel das handschriftliche Ausfüllen von Prüfprotokollen nicht mehr erforderlich, denn sie werden mit allen Informationen und Barcodes ausgedruckt. Die zu untersuchenden Prüfkörper werden im Labor mit dem Scanner eingelesen, so dass nur besondere Zusatzinformationen händisch eingegeben werden müssen.



Susanne Horner
Dr. med. Sabine Schütt
Universitätsklinikum Heidelberg
Department für Infektiologie

Michael Stratmann, Zentrum für Labordiagnostik, Linz am Rhein

POCT-Analyzer für Diabetesdiagnostik

Einleitung

Die Blutzuckerkontrolle bei bekanntem Diabetes mellitus ist die Hauptindikation für die Durchführung von Point-of-Care-Tests überhaupt, wobei Teststreifen den Markt mit über 90% dominieren. Für die Primärdiagnostik des Diabetes sind diese jedoch wegen methodischer Probleme nicht geeignet (Pfützner A., Trillium-Report 2009; 7(4):196). Außerdem bieten sie nur ein eingeschränktes Analysenspektrum.

Nasschemische Methoden sind analytisch überlegen, können jedoch in der Regel nur in einem entsprechend ausgerüsteten Zentrallabor durchgeführt werden. Der vor kurzem vorgestellte POCT-Analyzer InnovaStar von RGB verbindet die Vorzüge der Nasschemie mit der Verfügbarkeit vor Ort und kann neben Glukose auch HbA1c und Hb bestimmen. Unser Labor zählt zu den ersten Erprobern dieses Analysensystems.

Methodik

Im InnovaStar kommen folgende nasschemischen Verfahren zum Einsatz:

HbA1c Direktmessung mittels partikelverstärkter Immunturbidimetrie. HbA1c ist IFCC standardisiert und kann auch nach DCCT / NGSP geeicht werden, dies steht dem Anwender zur Auswahl. Der Messbereich wird mit 20-140 mmol/mol nach IFCC bzw. 4-15% nach DCCT/NGSP angegeben.

Glukose wird mittels enzymatischer GOD-PAP Methode photometrisch gemessen. Die Eichung bzw. Berechnung erfolgt hier über

einen Festfaktor, der Meßbereich beträgt 15-800 mg/dl. Die Handhabung ist durch vorgefüllte Unit-Dose-Reagenzien mit bis zu drei Komponenten sowie durch automatische Reagenzidentifikation mittels Barcode anwenderfreundlich gestaltet. Alle drei Parameter können aus demselben Hämolytat bestimmt werden. Für Glukose sind auch Serum oder Plasma einsetzbar.

Die Ergebnisse für HbA1c und Glukose liegen nach 7-8 Minuten, für Hämoglobin nach 1-2 Minuten vor.

Ergebnisse

Alle drei Analyte wurden gegen die jeweilige Referenzmethode gemessen und erzielten in der Passing-Bablok-Regressionsanalyse Steigungen zwischen 0,97 und 1,00 ohne signifikanten Achsenabschnitt. Das gilt vor allem auch im wichtigen Bereich von 6 bis 8% HbA1c (getestet gegen HPLC). Die Variationskoeffizienten lagen mit 1,1% (Hb) bis 2,7% (HbA1c) im empfohlenen Bereich für klinisch-chemische Testverfahren.

Darüber hinaus haben wir Vergleiche mit den in unserer Laborroutine eingesetzten Untersuchungsverfahren (HbA1c Direktmessung/Dia-

Sys und HbA1c/Siemens Advia) vorgenommen und nach Bland-Altman ausgewertet. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Abweichung bzw. Streuung nicht von der Höhe der Messwerte abhängig ist.

Da es sich um ein geschlossenes System handelt und keine Möglichkeit zur näheren Betrachtung der Bauteile und damit auch der Pipettierung gegeben war, haben wir zudem einen Provokationsversuch zum carry over hyperglykämischer Proben unternommen, der keine messbaren Ergebnisse gezeigt hat.

Diskussion

Gleich zu Anfang: Derartig präzise und über andere „Labor“-Methoden vergleichbare Messergebnisse hätten wir nicht erwartet. Das geringe Probenvolumen eröffnet auch Einsatzmöglichkeiten unter speziellen Anforderungen wie der Pädiatrie.

Die Verfügbarkeit derart kompakter und leistungsfähiger HbA1c Messsysteme als near patient testing erschwert zukünftig die Rechtfertigungen der Messung im Zentrallabor.

Eine exakte Probendosierung hat sich als

wichtig gezeigt; zwar unterschieden sich die Wiederholpräzisionen aus einem neuen Hämolytatansatz oder derselben Probe nur marginal, jedoch erfolgte die Anwendung ausschließlich durch med. techn. Personal. Hier wird es ganz entscheidend auf die Sorgfalt der Anwender im POCT Bereich ankommen.

Im Sinne der neuen Richtlinie der BÄK handelt es sich um ein lupenreines „unit-use“ System. Unserer Ansicht nach könnte die Menüführung noch etwas einfacher gestaltet werden.

Beschreibung InnovaStar

Der InnovaStar ist ein POCT-Gerät für die nasschemische Durchführung biochemischer Analysen durch geschultes Personal. Für Selbsttests ist das Gerät nicht vorgesehen. Probenvorbereitung und Testdurchführung sind durch die Verwendung einer geschlossenen Kassettentechnologie vereinfacht. Für die hier vorgestellten drei Analyte Glukose, HbA1c und Hb werden 10 µl Kapillarblut in einem Probengefäß zur Messung eingesetzt, das in einer Probekassette angeordnet ist.

Proben und vorgefüllte Unit-Dose-Reagenzien für alle drei Tests befinden sich auf einem einzigen Reagenzrack.



Die Applikationsdaten werden von einem lot-spezifischen Chip auf der Param Card eingelesen. Die Gefäße für Spül- und Abfallflüssigkeit befinden sich auf der Rückseite des Geräts (nicht zu sehen).

Weitere Spezifikationen und Optionen:

- Photometer 450 bis 700 nm
- autom. Testererkennung mit Barcode
- serieller Thermodruckeranschluss
- serieller RS 232 EDV-Anschluss
- PS2-Tastatur, Barcodereader

Kontaktinformation

Dipl.-Ing. Michael M. Stratmann
Zentrum für Labordiagnostik, Linz am Rhein
Tel. 02644/55531-1
labor@krankenhaus-linz.de



Tel. 06432/9512-0
info@greiner-bio.de
www.greiner-bio.de