

Innovative Infektionsdiagnostik

Kommentar

Die Vollautomation der PCR darf kein Privileg einer „geschlossenen Gesellschaft“ sein, auch wenn die meisten in dieser Ausgabe vorgestellten Systeme nur für wenige Hochdurchsatzlabore erschwinglich sind. Für häufig angeforderte Viren wie HBV, HCV oder HIV sowie für Chlamydia trachomatis gibt es bereits Lösungen, die gleichwohl die Bedürfnisse eines Labors mit mittlerem Durchsatz gut abdecken dürften, und für kleine Einrichtungen stehen diverse Schnelltests zur Verfügung, die ebenfalls eine Form der Vollautomation darstellen.

Unabhängig von der Größe der Systeme ist das eigentliche Problem der PCR-Diagnostik aber die Kostenerstattung für seltener angeforderte und dennoch relevante Keime. So bezahlen die Krankenkassen für Influenza A und B zusammen gerade einmal 20,50 Euro. Das ist selbst für ein großes Labor, das seine PCR-Assays selbst herstellt, nicht kostendeckend. Schließlich muss auch die Nukleinsäureextraktion in diesem Betrag untergebracht werden, und die ist bei automatisierter Durchführung in der Regel doppelt so teuer wie bei der (zeitaufwändigeren) Handmethode.

Es ist wichtig, infektiologische PCR-Tests allen Versicherten als Kassen- und nicht etwas als IGeL-Leistung zugänglich zu machen. Vorerst müssen die zwangsläufig entstehenden Verluste der Laborärzte intern ausgeglichen werden, aber das kann kein Modell für eine innovative Infektionsdiagnostik der Zukunft sein. Es liegt im Interesse der Solidargemeinschaft, die Infektionsdiagnostik in Deutschland auf dem neuesten Stand der Technik zu halten.

gh

Vollautomation im PCR-Labor

Geschlossene Gesellschaft

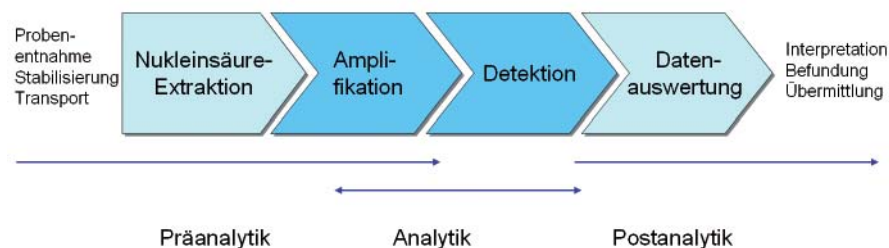
Vollautomationssysteme für die PCR eignen sich vor allem für große infektiologische Laboratorien. Sie bieten eine geschlossene Prozesskette, die Qualitäts- und Effizienzvorteile bringt.

Nur wenige biochemische Verfahren haben die Medizin so tiefgreifend verändert wie die PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Sie kann winzige Nukleinsäuremengen in kürzester Zeit millionenfach vervielfältigen; theoretisch genügt dafür ein einziges Ausgangsmolekül.

Ihre extreme Empfindlichkeit ist für die Diagnostik und Therapieüberwachung von Krankheiten wie AIDS und Hepatitis ein Segen, stellt aber an die Qualität der Analytik und Probenaufbereitung höchste Anforderungen. Diese lassen sich am besten durch eine geschlossene, komplett automatisierte Prozesskette erfüllen, weil so Verunreinigungen verhindert und Menschen als Fehlerquelle weitgehend ausgeschlossen werden.

Automatisierte PCR-Verfahren werden durch kontinuierliche Messung der Nukleinsäuremenge mittels Real-Time PCR ermöglicht. Sie verknüpft die Teilschritte Amplifikation und Detektion zu einem einzigen Arbeitsgang und liefert quantitative Resultate. Das obige Bild zeigt typische Verläufe der Messungen, das Prinzip wird im Bild auf S. 239 erläutert.

Von Vollautomation spricht man, wenn neben der PCR auch die Prä- und Post-Analytik auf derselben Geräteplattform eingebunden ist (Grafik unten). In erster Linie geht es um den nahtlosen Anschluss eines Extraktionsautomaten. Er bietet neben optimaler Kontaminationskontrolle auch einen höheren Probendurchsatz sowie Einsparungen beim Personal.



Geschlossene Prozesskette: Die Vollautomation von Laborprozessen beinhaltet neben der eigentlichen Analytik auch die Prä- und Postanalytik. Beim Erregernachweis mittels Real-Time PCR dient die Vermehrung (Amplifikation) von Nukleinsäuren gleichzeitig der quantitativen Messung (Detektion), so dass die ersten beiden Phasen nahtlos ineinander übergehen.

Grafik: Trillium

Die auf den nächsten Seiten vorgestellten Komplettsysteme rechnen sich vor allem für große Einsendelabore. Für niedrigen bis hohen Durchsatz bietet der Markt auch reine Extraktionsgeräte, die man mit PCR-Automaten frei kombinieren kann. Über sie soll in der nächsten Trillium-Ausgabe berichtet werden.

Vollautomationssysteme erzielen ihre hohen Durchsätze durch eine sorgfältig abgestimmte, parallele Abarbeitung von 24, 48 oder 96 Proben im Mikrotiterplattenformat, so dass sich die meisten Systeme am besten rechnen, wenn man einen „vollen Lauf“ (Batch) gleichartiger Tests am selben Tag messen kann. Flexible Serienlängen und Nachladen von Reagenzien sind zwar grundsätzlich, aber nicht bei allen Systemen möglich.

Viper (BD) und Tigris (GenProbe) eignen sich besonders gut für den Hochdurchsatzbereich bei limitiertem Spektrum (mehrere 100 Proben pro Tag für CT, NG und HPV). *mSystem* (Abbott), *cobas Systemfamilie* (Roche), *QiaSymphony* (Qiagen) und *kPCR* (Siemens) können auch für Serien unter 96 pro Lauf eingesetzt werden. Tests für HCV, HIV und HBV sind im Testportfolio von drei Anbietern, rechnen sich aber wegen geringerer Anforderungsfrequenz für kleinere



Der „Trick“ bei der Real-Time PCR besteht darin, dass die freie Gensonde (rechts) erst dann ein Fluoreszenzsignal aussendet, wenn sie an den zu messenden DNA-Strang bindet. Dargestellt ist eine von zahlreichen Realisierungsmöglichkeiten: Bedingt durch die Haarnadelform der freien Sonde (rechts) liegt hier ein Reportermolekül so nahe an einem „Quencher“, dass dieser das Fluoreszenzsignal unterdrückt. Bei der Bindung an die Ziel-DNA wird die Sonde entfaltet, so dass sich die beiden Moleküle voneinander entfernen; der Reporter beginnt zu leuchten. Dies geschieht umso früher, je mehr Ziel-DNA in der Probe vorhanden ist.

Bildquelle: en.wikipedia.org/wiki/Real-time_pcr

Labore nicht. Der Nachweis anderer relevanter Erreger wie Influenza- und Noroviren oder MRSA gehört nicht zum Standardprogramm der Vollautomaten.

Durch die Vollautomation des kompletten Prozesses von der Nukleinsäureextraktion bis zur Auswertung sind an einem Arbeitstag bis zu zwei 96er-Serien möglich. Während eine Amplifikation läuft, startet man in der Regel bereits die nächste Präparation. Tests mit identischem Laufprofil können bei einigen Herstellern auch im selben Ansatz kombiniert werden. Trotz dieser Möglichkeiten der Flexibilisierung ma-

chen die langen Prozesszeiten einen echten „Random-Access“-Betrieb, wie er in der klinischen Chemie üblich ist, vorerst noch unmöglich. Durch verbesserte Robotik, Miniaturisierung und innovative Reaktionsprinzipien mit kürzeren Zykluszeiten sowie PCR-unabhängige Techniken ohne Amplifikationsschritt sind in der Zukunft noch spannende Weiterentwicklungen zu erwarten. 🌸

Dr. Andreas Lindauer

Dr. Kurt Beyser

synlab MVZ Weiden GmbH

Pathogen-Nachweise als Real-Time PCR

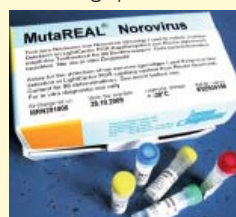


Umfassende Palette:

- Norovirus
- Enterovirus
- Influenzavirus
- Salmonella sp.
- Helicobacter pylori
- Campylobacter
- Mycobacterium tuberculosis
- und viele andere!

Vorteile der Komplettkits:

- Hochsensitiv, spezifisch
- CE-markiert
- QCMD-geprüfte Qualität



Für gängige Automaten:

- **MutaREAL®:**
LightCycler 1.5 / 2.0
- **MutaPLATE®:**
LightCycler 480,
SmartCycler,
RotorGene,
Stratagene,
ABI 7500

Immundiagnostik AG • Dr. Wolfgang Reichert • Stubenwald-Allee 8a • 64625 Bensheim •
wolfgang.reichert@immundiagnostik.com • www.immundiagnostik.com • Tel. 06251/70190-0