

Extraktion von Nukleinsäuren aus hochinfektösen Viren

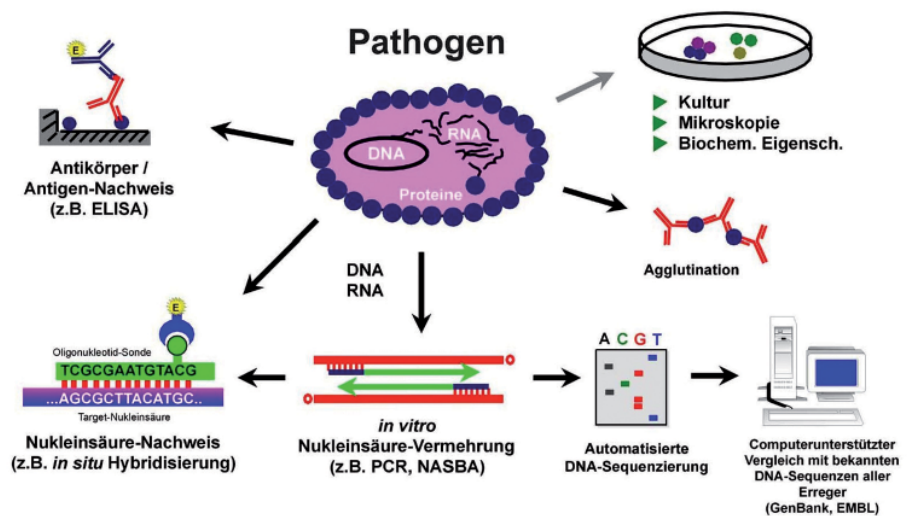
Ergebnisse eines Methodenvergleichs

Die Molekulardiagnostik von Infektionskrankheiten wie auch der Erregernachweis in Reservoir-Tieren wie Zecken, Mücken oder Mäusen setzt eine hochwertige Nukleinsäureextraktion voraus. Ob manuell oder automatisiert: Eine Lösung von der Stange gibt es nicht.

Um im Rahmen viral verursachter Krankheiten, wie beispielsweise einem Pockenausbruch oder hämorrhagischem Fieber, sofort reagieren zu können, ist eine zuverlässige Schnelldiagnostik enorm wichtig. Am Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr in München erproben wir verschiedene neue Techniken zum Nachweis solcher hochpathogener Krankheitserreger.

Gerade in der Molekulardiagnostik von Infektionskrankheiten (siehe Abbildung) ist die Qualität der Probenaufarbeitung, also die Nukleinsäureextraktion, für die Qualität des Ergebnisses entscheidend. Sie kann die analytische Sensitivität, Spezifität und Dynamik des diagnostischen Assays maßgeblich beeinflussen.

Um diesen wichtigen Schritt zu optimieren, verglichen wir im Rahmen eines zweijährigen Projektes die bislang manuelle Nukleinsäureextraktion mit semiautomatischen und automatisierten Technologien zur Isolierung viraler Nukleinsäuren aus unterschiedlichen klinischen und biologischen Trägermaterialien (Serum, Leberbiopsie, Zellkulturmedium, Zecken). Neben der klassischen manuellen Extraktion (Bindung an eine Silicamembran in Säulchen) prüften wir vor allem auch Extraktionsverfahren, die die Nukleinsäure mithilfe magnetischer Beads separieren. Außerdem wurde ein Aufreinigungssystem getestet, das auf der Bindung der DNA oder RNA an ein organisches Polymer in Säulchen und der anschließenden semiau-



Bei der Diagnostik von Infektionskrankheiten spielen Quantifizierung und Charakterisierung von Nukleinsäuren eine immer größere Rolle (Bildquelle: Prof. Dr. Udo Reischl, Universität Regensburg).

tomatischen Extraktion durch Luftdruck beruht. Als Quintessenz unseres Vergleichs ist festzuhalten, dass die Leistung eines Geräts nicht einfach mit gut oder schlecht zu bewerten ist; die Entscheidung für ein bestimmtes System hängt vielmehr vom Probenmaterial und der diagnostischen oder wissenschaftlichen Fragestellung ab. So wiesen die Systeme zum Beispiel unterschiedlich weite Messbereiche auf. Die Ausweitung in Richtung hoher Konzentrationen ging allerdings häufig auf Kosten Linearität, was wiederum die Richtigkeit beeinträchtigte. Andere Systeme kamen mit besonders kleinen Elutionsvolumina aus oder zeigten eine hohe Empfindlichkeit im unteren Messbereich. Und schließlich war die klassische manuelle Aufreinigung den automatisierten Verfahren keineswegs immer unterlegen.

Bei der Isolierung von Nukleinsäuren aus Viren lässt sich also keine pauschale Empfehlung für oder gegen ein bestimmtes – manuelles oder automatisiertes – Extraktionsverfahren geben. Jedes Labor sollte seine Bedürfnisse in Bezug auf den Anwendungsbereich (Forschung, Diagnostik, Forensik), Art der Nukleinsäure (DNA, RNA), Probendurchsatz, Kosten und Dauer der Anwendungen sorgfältig evaluieren, bevor es eine Kaufentscheidung fällt. Auf S. 56-57 werden beispielhaft einige Automationssysteme tabellarisch verglichen, um diese Entscheidung zu erleichtern. 🌸

Priv.-Doz. Dr. Sandra Eßbauer
 Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
 Virologie und Rickettsiologie
 sandraessbauer@bundeswehr.org