

Zentrifugale Mikrofluidik für die automatisierte Analyse

Ein innovatives Diagnosesystem ermöglicht die schnelle und spezifische Detektion von Methicillin-resistentem Staphylococcus aureus.

Dr. Nadine Borst, apl. Prof. Dr. Felix von Stetten, Institut für Mikroanalytische Systeme, Hahn-Schickard, Freiburg

Nosokomiale Infektionen, die durch den Aufenthalt in einem Krankenhaus oder einer Pflegeeinrichtung auftreten, führen weltweit zu zusätzlichen Belastungen für Patienten und Gesundheitssysteme. Zudem steigt die Anzahl von Infektionen mit multiresistenten Erregern. Schätzungen zufolge waren 2015 etwa 670.000 Menschen europaweit betroffen und mehr als 33.000 Patienten starben an den Folgen.



Dr. Nadine Borst

Etwa 75% der Fälle sind auf nosokomiale Infektionen zurückzuführen. Um das Auftreten und die Verbreitung von resistenten Pathogenen einzudämmen, ist eine schnelle und effiziente Diagnostik notwendig. So können unmittelbar Maßnahmen für

den Patienten ergriffen werden und ein gezielter Einsatz von Antibiotika erfolgen. Derzeit benötigen verfügbare Standardmethoden allerdings noch bis zu 48 Stunden, um die entsprechenden Erreger nachzuweisen, und sind meist mit einer arbeitsintensiven Laboranalyse verbunden.

Tropfenbasierte Einzelzellanalyse mit kurzer Analysezeit

Im Rahmen eines Forschungsprojekts wurde von Hahn-Schickard und weiteren Instituten der Innovationsallianz Baden-Württemberg ein Diagnostiksystem basierend auf einem zentrifugal-mikrofluidischen Testträger entwickelt (Abb. 1). Dieses ermöglicht den automatisierten Nachweis von antibiotikaresistenten Bakterien mit einer Analysezeit von weniger als 60 Minuten. Eine scheibenförmige Kartusche aus Kunststoff, die LabDisk (Abb. 2), beinhaltet alle für den Nachweis notwendigen Reagenzien. Der Tupfer eines Nasenabstrichs wird direkt als Probe eingebracht. Alle weiteren Prozessschritte, wie die Aufbereitung der Probe und die Zugabe der Reagenzien, laufen automatisiert im Analysegerät ab. Die Besonderheit dieses Tests ist die Aufteilung der Probe in 20.000 Mikrotröpfchen. So werden die enthaltenen Bakterien vereinzelt, was eine Zuordnung von Infektionserreger und auftretender Antibiotikaresistenz erlaubt. Das Klinikpersonal soll so in die Lage versetzt werden, differenziertere Entscheidungen bezüglich Kohortierungs-, Isolations- und Entisolationsmaßnahmen infizierter Patienten zu treffen sowie das Einleiten einer zielgerichteten Antibiotikatherapie wesentlich zu beschleunigen. Innerhalb der Mikrotröpfchen werden die Bakterienzellen zunächst enzymatisch lysiert und die DNA freigesetzt. Die Verwendung einer isothermen Nachweisreaktion, der Rekombinase-Polymerase-Amplifikation (RPA) ermöglicht den parallelen Nachweis

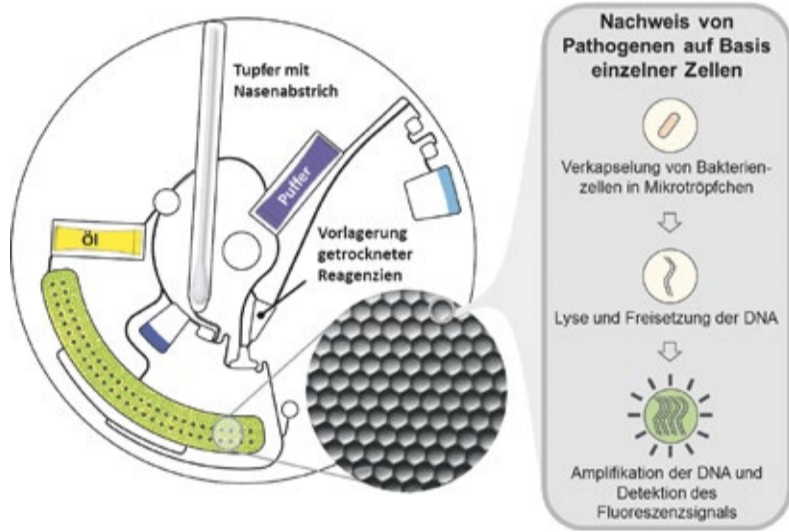


Abb. 1: Schematische Darstellung der mikrofluidischen Kartusche und der Funktionsweise der tropfenbasierten Einzelzellanalyse. Foto: Hahn-Schickard



Abb. 2: LabDisk zur Detektion von MRSA: Zentrifugal-mikrofluidischer Testträger zur automatisierten Analyse antibiotikaresistenter Erreger. Foto: Bernd Müller

verschiedener genetischer Marker in kurzer Zeit. Die Amplifikation bei gleichbleibender Temperatur von 38°C verringert weiterhin die Anforderungen an das Analysegerät.

LabDisk zur spezifischen Detektion von Keimen

Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus (MRSA) ist einer der häufigsten Erreger nosokomialer Infektionen. In Untersuchungen wurde erfolgreich gezeigt, dass Zellen einer Mischkultur durch die Aufteilung in Mikrotröpfchen vereinzelt werden können. In Kombination mit

der Detektion von Resistenzgenen und speziesspezifischen Sequenzen wird die Unterscheidung von MRSA, Methicillin-sensitivem S. aureus (MSSA) und Koagulase-negativen Staphylokokken ermöglicht. Mit dem System wurde eine klinisch relevante Sensitivität von zwei koloniebildenden Einheiten (KBE) pro Mikroliter Probe erreicht. Untersuchungen mit Probandenproben zeigten weiterhin die Robustheit des Nachweises gegenüber der komplexen Probenmatrix. Für die gesamte Analyse muss lediglich der Tupfer manuell in die LabDisk eingelegt werden. So kann der Test in die gegebenen Arbeitsabläufe integriert und die Diagnose

durch das Klinikpersonal selbst vor Ort in kürzester Zeit erstellen werden.

Plattformtechnologie für tropfenbasierte Vor-Ort-Analytik

Das entwickelte System kann als Plattformtechnologie fungieren und den Einsatz weiterer tropfenbasierter Analyseverfahren vor Ort ermöglichen. Dabei bietet es die Vorteile einer absoluten Quantifizierung, der Analyse einzelner Zellen sowie die Integration der Probenvorbereitung für einen automatisierten Arbeitsablauf.

| www.Hahn-Schickard.de |

Schnelle Diagnose von Influenzasubtypen

Auf nationalen und internationalen Fachveranstaltungen werden immer neue und bessere Strategien für die globale Gesundheitsversorgung und Stärkung von Gesundheitssystemen weltweit diskutiert.

Bettina Baierl, Berlin

Auch der Schutz vor Pandemien steht auf der Agenda. In einer immer globaler werdenden Alltagswelt ist es ein erklärtes Ziel, die Menschen vor pandemischen Ausbrüchen zu schützen. Ein Ansatz ist es, eine schnelle Antwort auf die Frage geben zu können, an welchem Virus-Subtyp Menschen genau erkrankt sind und so den Inkubationsweg konsequent abzuschneiden.

Pandemien können hohe Todeszahlen fordern. Ein sehr bekanntes Beispiel dafür ist die Spanische Grippe von 1918. Sie wurde von einem H1N1-Influenzavirus verursacht und gehört zu den verheerendsten und heute gut untersuchten Pandemien in der Menschheitsgeschichte. Viruseigene Virulenzfaktoren, sekundäre bakterielle Infektionen, aber auch das Fehlen von heute gängigen Therapiemöglichkeiten durch Antivirale oder Antibiotika sind vor allem im Kontext des Ersten Weltkrieges wichtige Ursachen für das desaströse Ausmaß. Etwas später – 1953 wurden die ersten Influenza-Viren (Influenza A) isoliert. Aber es gibt auch jüngere Beispiele wie die Ausbrüche der Schweinegrippe 2009 und 2010. Krankheiten wie die



Das PanPlex-System

Foto: Fraunhofer IMM

Schweinegrippe können sich in kurzer Zeit über ganze Länder und Kontinente hinweg ausbreiten. Aber auch wenn in Ländern wie Deutschland durch die gute medizinische Versorgung viele Infektionskrankheiten ihren Schrecken verloren haben, gehören heute biologische Erreger und Gefahrstoffe zu den potentiellen Bedrohungen für die Zivilgesellschaft. Auch hier kann eine schnelle Diagnostik und unmittelbare Erkennung der konkreten Erreger einen wichtigen Beitrag leisten.

Multiplex-basierter Point-of-Care-Nachweis von Erregern

Hinter „PanPlex“ steht ein schneller Multiplex-basierter Point-of-Care-Nachweis von Erregern mit pandemischem Potential. Das Ziel ist es, eine automatisierte Diagnoseplattform zu entwickeln, die verschiedene Influenza- und Coronaviren erkennen soll. Entsprechend könnte das System dazu beitragen, die Ausbreitung von gefährlichen Erregern einzudämmen.

Das Projekt wurde bis 3/19 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 13N13846 gefördert. Diesbezüglich sind Wissenschaftler am Fraunhofer-Institut für Mikroelektronik und Mikrosysteme (Fraunhofer IMM) mit der Entwicklung eines derartigen Diagnosesystems und eines mikrofluidischen Chips beschäftigt, welche komplett automatisiert den Nachweis über mehrere Grippe-subtypen erbringen sollen. In einer Pressemitteilung von Anfang 2019 berichtet das Fraunhofer IMM zum Projektverlauf, dass das PanPlex-System realisiert und erstmals erfolgreich getestet wurde. Es wird beschrieben, dass gezeigt werden konnte, dass der Nachweis verschiedener Influenzasubtypen zuverlässig funktioniert. Nächste Schritte sind die vollständige Integration aller Prozessschritte im Gerät sowie die Validierung der Daten. Dann soll der Prozess komplett automatisiert ablaufen: Die arbeits- und dementsprechend zeitaufwendige Probenvorbereitung muss nicht mehr von

Hand gemacht werden, sondern läuft im Gerät ab. Dadurch werden Fehlerquellen eliminiert, der Prozess wird schneller und genauer. Das System wurde als Plattform-Technologie ausgelegt und kann somit je nach Bedarf an neue Erreger angepasst werden. Jegliche Art von Erregern können somit nachgewiesen werden, was im Kampf gegen epi- und pandemische Krankheiten (unter anderem z.B. Vogelgrippe und SARS) den entscheidenden Vorteil bringen kann, so die Überlegung.

Bisher müssen die Proben noch ins Labor geschickt werden – mehrere Stunden oder gar Tage dauert es, bevor Patienten und Ärzte um die Befunde wissen. Gerade bei schweren Grippeerkrankungen gelte es, zügig zu handeln, auch im Interesse der Mitmenschen. Grippewellen, so wie in der Influenzasaison 2017/2018 mit über 300.000 Erkrankungen und fast 1.000 Todesfällen, zeigen die Aktualität und Relevanz des Themas.

Ein weiterer wichtiger Schritt wäre es, das PanPlex-System in einer Grippe-saison klinischen Tests zu unterziehen. Die Mainzer Wissenschaftler bemühen sich aktuell darum, die erforderlichen Rahmenbedingungen nach Ablauf der Projektzeit für eine Fortführung der Arbeit und damit für eine künftige Verfügbarkeit einer schnellen und mobilen Diagnostik bei pan- oder epidemischen Ausbruchsgeschehen zu schaffen.

M&K
Management & Krankenhaus
Zeitung für Entscheider im Gesundheitswesen

Datenanalysen in der personalisierten Medizin

Die Schering Stiftung zeichnet Johannes Köster mit dem Friedmund Neumann Preis 2019 aus. Der Bioinformatiker erhält den Preis für seine Beiträge zur Reproduzierbarkeit von Datenanalysen und zur Qualitätssicherung in der biomedizinischen Forschung.

Biomedizinische Datensätze, die beispielsweise aus der Analyse des Erbgutes oder aus bildgebenden Verfahren gewonnen werden, sind umfangreich und komplex. Erst viele einzelne Analyseschritte machen diese experimentell gewonnenen Daten erfassbar und biomedizinische Erkenntnisse möglich. Der Bioinformatiker Dr. Johannes Köster, Arbeitsgruppenleiter im Institut für Humangenetik der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen, entwickelte Softwarelösungen, die den Prozess der Datenanalyse strukturieren und automatisieren und so zu Ergebnissen führen, die nachvollziehbar und wiederholbar sind. Mit „Snakemake“ hat Dr. Köster Biomedizinern eine freie Software an die Hand gegeben, um Datenanalysen formal zu beschreiben und automatisiert auszuführen. Johannes Köster hat darüber hinaus das Projekt „Bioconda“ ins Leben gerufen, das den weltweit führenden Mechanismus für die nachhaltige Verbreitung von bioinformatischer Software bietet.

Seine aktuelle Forschung entwickelt zudem eine vereinheitlichte Theorie zur statistischen Analyse von Mutationen im Genom mit besonderem Fokus auf eine interpretierbare und transparente Bestimmung von Messunsicherheiten. Die Arbeiten von Johannes Köster unterstützen somit die reproduzierbare Datenanalyse und steigern die Qualitätssicherung in der Biomedizin. Für seine herausragenden Forschungsarbeiten erhält Dr. Johannes Köster den diesjährigen Friedmund Neumann Preis. Die Schering Stiftung vergibt den mit 10.000 € dotierten Preis



Dr. Johannes Köster

Foto: Stefan Arend

an Nachwuchswissenschaftler, die herausragende Arbeiten in der humanbiologischen, organisch-chemischen oder humanmedizinischen Grundlagenforschung erbracht und nach der Promotion bereits ein eigenständiges wissenschaftliches Profil entwickelt haben. Der Preis will exzellente wissenschaftliche Leistung sichtbar machen und die wissenschaftliche Etablierung unterstützen. Johannes Köster wurde für den Friedmund Neumann Preis 2019 von Prof. Dr. Sven Rahmann, Lehrstuhl für Genominformatik am Institut für Humangenetik der Universität Duisburg-Essen, vorgeschlagen. „Die Arbeiten von Johannes Köster sind enorm vielseitig und umfassen sowohl theoretische Modelle als auch ganz praktische Software-Werkzeuge für biomedizinische Datenanalysen. Die Reproduzierbarkeit solcher Analysen ist extrem wichtig für die Glaubwürdigkeit der biomedizinischen Forschung. Hierzu hat Johannes Köster entscheidende Grundlagen gelegt, auf denen nun weltweit zahlreiche Forschende aufbauen“, so Rahmann.

| https://scheringstiftung.de |