

32. Jahrgang
November 2009
S. 31-32

6

BIOforum

FORSCHUNG • ENTWICKLUNG • SERVICE

Sonderdruck

Schnell und flexibel

Influenza-Diagnostik mit dem Maxwell 16



Schnell und flexibel

Influenza-Diagnostik mit dem Maxwell 16



Mit der Infektionswelle der neuen Influenza A/H1N1 (Schweinegrippe) und den behördlichen Melde- und Quarantäneauflagen ist es für Diagnostiklabore noch wichtiger geworden Proben in kurzer Zeit zuverlässig zu testen. In einem 24-Stunden-Bereitschafts- und Versorgungslabor kommen Proben schubweise an und trotzdem müssen die Ergebnisse schnellstmöglich an die Einsender übermittelt werden. Da die Nukleinsäure-Aufreinigung oftmals der erste einer Reihe von Analyseschritten ist, ist es wichtig qualitativ und quantitativ hochwertig und schnell aufzureinigen. Das Diagnostiklabor Laboratoriumsmedizin Köln der Dres. med. Wisplinghoff und Kollegen setzt dabei statt auf einen großen Pipettierroboter auf die Flexibilität von vier Maxwell 16 Systemen. Diese reinigen innerhalb von nur 35 Minuten je 16 Proben auf.

Die Infektionsraten der neuen Influenza A/H1N1 sind in den letzten Wochen stark gestiegen. Das Diagnostiklabor Laboratoriumsmedizin Köln erreichen mit 100–150 Proben pro 24 Stunden so viele Influenza-Proben wie noch nie. Über 2.000 Krankenhäuser und Arztpraxen aus dem Rheinland, dem Ruhrgebiet, dem Aachener Raum und Rheinland-Pfalz lassen hier ihre Proben testen.

Ausgangsmaterial	Nachweise/Downstream-Anwendungen
Abstrich	Methicillin-Resistenz, Herpes-simplex-Virus, Humaner-Papilloma-Virus, Bordatella pertussis
Wattestäbchen	humane Leukozyten-Antigene, Influenza
Buffy Coat	humane Leukozyten-Antigene
Vollblut	Blutgruppen PCR
BAL ⁱ -Probe	Humaner-Zytomegalie-Virus, Herpes-simplex-Virus, Humaner-Herpes-Virus 6, Adenovirus, Pneumocystis jirovecii
FFPE ⁱⁱ -Gewebe	PCR ⁱⁱⁱ , qualitative PCR
Plasma/Serum	Hepatitis-B-Virus
EDTA-Blut	Humane Zielgene, Kuhfieber, Epstein-Barr-Virus, Zytomegalie-Virus
Kultur	Methicillin-Resistenz, Salmonellen
Stuhl	Norovirus, Hepatitis-A-Virus
Blut	humane Leukozyten-Antigene
Liquor	Herpes Viren (DNA-Viren)
Sputum	Chlamydien, Mycoplasmen, Legionellen

ⁱ bronchoalveoläre Lavage, ⁱⁱ Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes, ⁱⁱⁱ Polymerase Kettenreaktion

Tab.: Automatisierte Nukleinsäureaufreinigung mit dem Maxwell 16 System: Beispiele bisheriger Anwendungen und Probenarten des Maxwell 16 Systems.

Gute Erfahrungen

Seit 20 Jahren arbeitet Marion Steinmetz (Abb.1) in dem Diagnostiklabor und ist in der Abteilung von Prof. Dr. rer. nat. Joachim Arnemann für allgemeine PCR- und Thrombophiliediagnostik zuständig. Anfangs hat sie die Nukleinsäure noch per Hand mit Säulen aufgereinigt, doch mit der Zunahme des Probenvolumens wurde eine schnelle und zuverlässige Methode der RNA/DNA-Aufreinigung notwendig.

Im Frühjahr dieses Jahres hat das Labor das erste Maxwell 16 System erstanden. Mit der Ausbreitung der neuen Influenza A/H1N1 wurde es nötig aufzurüsten. Die Entscheidung für drei weitere Maxwell Geräte fiel aufgrund der Erfahrungen leicht: „Die Maxwell Geräte reinigen Nukleinsäure schnell und zuverlässig auf. Außerdem stimmte der Preis.“, begründet Marion Steinmetz die Kaufentscheidung. Zudem konnten die neuen Geräte bereits vier Tage nach der Bestellung genutzt

werden. Der ausschlagende Grund für den Kauf war jedoch die Flexibilität der Geräte: Die Proben treffen schubweise Tag und Nacht als Eilproben aus den Krankenhäusern im Labor ein. Eine schnelle Bearbeitung muss also selbst bei wenigen Proben möglich sein. Für das vom deutschen Akkreditierungsrat akkreditierte Labor ist es natürlich genauso wichtig, dass die neuen Maxwell 16 Geräte das IVD-CE-Kennzeichen 98/79/EC über vitro Diagnostik besitzen. Ein IVD-zertifizierter Kit für den Nachweis von Viren wird in Kürze erhältlich sein.

Wenig Arbeit, gute Ergebnisse

Die Aufreinigung der Proben ist einfach (Abb.2): Ideal sind trockene Abstriche aus dem Rachen- oder Nasenraum, aber auch aus Gelpuffern wird genug RNA isoliert. Mit 200 µl NaCl-Lösung werden die Viren aus dem Material gelöst. Dazu werden 200 µl RNA-Lysis-Buffer inklusive 2 µl β-Mercaptoethanol aus dem Maxwell 16 Tissue LEV Total RNA Purification Kit pipettiert. Der Mix wird für 10 Min. bei 56 °C inkubiert, danach wird das Lysat direkt in die erste Kammer der RNA-LEV-Kartusche gegeben und der Aufreinigungsautomat gestartet. Nach 35 Minuten kann die eluierte RNA aus dem Gerät entnommen werden. Die manuelle Aufreinigung von 16 Proben würde im Vergleich weit über eine Stunde dauern, die komplett an der Laborbank verbracht werden müsste.

Das Risiko der Kreuzkontamination minimiert

Statt Flüssigkeiten von Well zu Well zu transportieren, arbeitet das Maxwell 16 System mit einem magnetischem System. Probleme wie beim Liquid-Handling, beispielsweise Spritzer oder Verunreinigungen, treten nicht auf; die Möglichkeit der Kreuzkontamination ist somit nahezu eliminiert. Die einzeln versiegelten Kartuschen für das Maxwell 16 enthalten bereits alle benötigten Puffer und die paramagnetischen Partikel.

Das Maxwell 16 LEV erlaubt die Elution in geringeren Volumina als mit dem Standardgerät (30–100 µl statt 300 µl), dadurch kann die eluierte Probe direkt für eine Real-Time Reverse Transcriptase-PCR auf H1N1 Marker eingesetzt werden. Die Aufreinigung der RNA ist dabei sehr effizient, bislang war keine der von Marion Steinmetz bearbeiteten Proben inhibiert. „Von etwa 100 getesteten Proben sind im Schnitt derzeit zwei bis drei Proben positiv für H1N1.“, erklärt Frau Steinmetz. Die Ergebnisse der Tests gehen noch am selben Tag an die Krankenhäuser und Arztpraxen zurück. Zwischen Probenentnahme in der Arztpraxis und Diagnostik liegen so keine 24 Stunden. Das Labor erfüllt damit die Anforderungen der Kassenärztlichen Bundesvereinigung. Professor Arnemann sieht in den kleinen Aufreinigungsgeräten den Trend in der Routine-Diagnostik: „Wir arbeiten auch nachts und haben nicht



Abb.1: Marion Steinmetz, Laborleiterin im Diagnostiklabor der Dres. med. Wisplinghoff

die Zeit zu warten bis genügend Proben für die großen Pipettierroboter eintreffen. Mit den Maxwell 16 Geräten können wir die eintreffenden Proben individuell und zeitnah abarbeiten.“

Ausblick

Der kleine „Roboter“ lässt sich für eine Vielzahl weiterer Anwendungen einsetzen. Im PCR Labor der Laboratoriumsmedizin Köln wird er auch für den Nachweis des Humanen-Papilloma-Virus aus Blut verwandt. Dabei läuft die Probenvorbereitung und Aufreinigung genauso wie beim Influenza-Virus. Das Maxwell 16 System lässt sich vielseitig für die Diagnose von anderen Viren (z.B. Epstein-Barr Virus) und Bakterien (z.B. Borrelien) einsetzen (Tabelle). Dabei können die Nukleinsäuren aus Stuhl, Kultur, Blut, Liquor und Sputum aufgereinigt werden. In der Forschung findet der Roboter seinen Einsatz in der Aufreinigung von genomischer DNA aus Mausschwanz oder der Proteinaufreinigung über Tags.

Ab Herbst 2009 ist ein neues Gerätemodell mit einem Barcode-System erhältlich. Es wird die Probenvorbereitung erleichtern und somit die Verwechslungsgefahr minimieren. Das Barcodesystem ermöglicht beispielsweise die digitale Anbindung an ein Labor-Informationen-Management-System. Über entsprechende Schnittstellen kann auch Hardware (Drucker etc.) angebunden werden.

Kontakt

Tanja López
 Promega GmbH
 Marktmanagerin Molekulare Diagnostik
 Mannheim
 Tel.: 0621/8501-288
 tanja.lopez@promega.com
 www.promega.com/de/maxwell16/

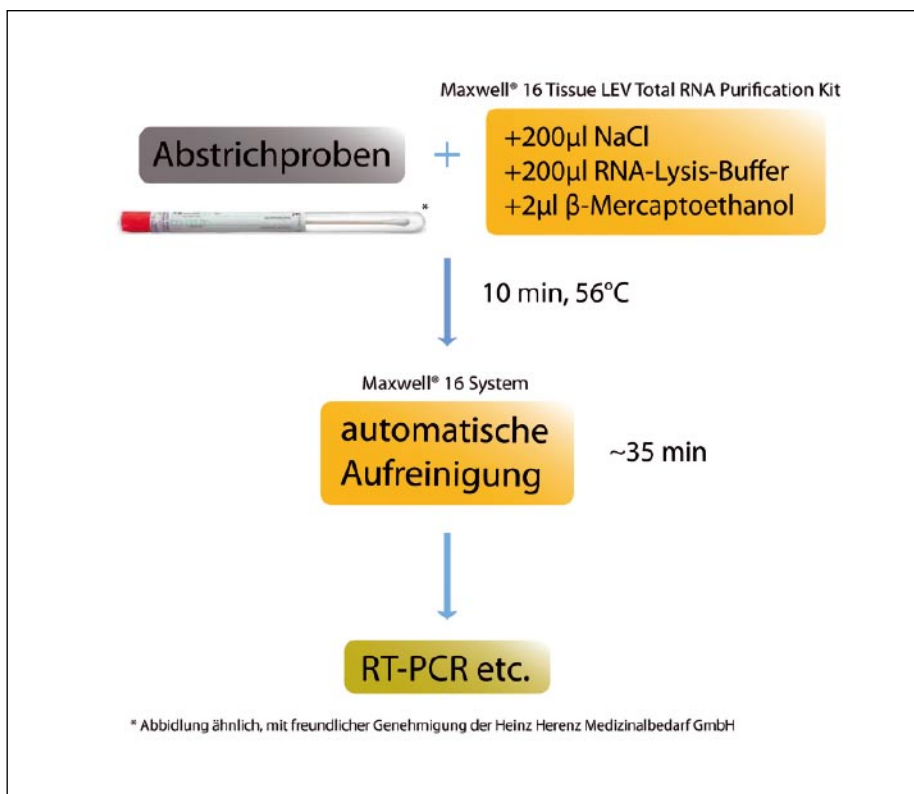


Abb.2: Arbeitsablauf bei der Influenza-Diagnostik

Ich interessiere mich für das Maxwell® 16 System



- Bitte senden Sie mir Informationsmaterial zum Maxwell® 16 System per E-Mail als pdf an _____
- Erstellen Sie mir ein individuelles Angebot:
Ausgangsmaterial _____ Proben pro Woche _____
- Ich interessiere mich für eine Maxwell® 16 Demonstration in meinem Labor – bitte kontaktieren Sie mich.

Titel/Vorname/Name	Straße/Nr.
Firma/Einrichtung/Labor	PLZ/Ort
Abteilung/Institut	Telefon/Fax
	E-Mail

Gerät	Artikel-Nummer
Maxwell® 16 Instrument inklusive SEV-Hardware für 100–400 µl Elutionsvolumen	AS2000
Maxwell® 16 Instrument mit UV-Licht und Barcode System	AS3000
LEV-Hardware inklusive LEV Conversion Kit für 20–100 µl Elutionsvolumen	AS1250

Aufreinigungskits	Artikel-Nummer	Menge
Kits für Genomische DNA-Aufreinigung		
Maxwell® 16 Blood DNA Purification Kit	AS1010	48 preps
Maxwell® 16 Cell DNA Purification Kit	AS1020	48 preps
Maxwell® 16 Tissue DNA Purification Kit	AS1030	48 preps
Maxwell® 16 Mouse Tail DNA Purifikation Kit	AS1120	48 preps
Kits für RNA-Aufreinigung		
Maxwell® 16 Total RNA Purification Kit	AS1050	48 preps
Kits für Protein Aufreinigung		
Maxwell® 16 Polyhistidine Purification Kit	AS1060	48 preps
Kits für Aufreinigung im LEV-Format		
Maxwell® 16 Tissue LEV Total RNA Purification Kit	AS1220	48 preps
Maxwell® 16 Cell LEV Total RNA Purification Kit	AS1225	48 preps
Maxwell® 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification Kit	AS1130	48 preps
Maxwell® 16 Cell LEV DNA Purification Kit	AS1140	48 preps
Maxwell® 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	AS1150	48 preps