

## Auch Ausnahmesituationen gut bewältigen

Dr. André Frontzek, Labor Mönchengladbach, MVZ Dr. Stein & Kollegen GbR



fotolia/soupsstock

*Die Schweinegrippepandemie führte uns die Schwächen eines manuellen LDT-Workflows vor Augen.*

*Neben CE-IVD-Testen setzen große Labore, wie beispielsweise das MVZ Dr. Stein & Kollegen in Mönchengladbach, auch selbst entwickelte, sogenannte Lab Developed Tests (LDTs), im Laboralltag ein. Nur so ist die Vielfalt der angeforderten Parameter zu bewältigen. Die Abarbeitung von LDT-Parametern gestaltet sich traditionell aufwändig, weil sie mit vielen Arbeitsschritten verknüpft ist. Dies bindet Personal und Zeit. Hier wird uns der „Utility Channel“ des neuen Systems cobas 6800 für die Molekulare Diagnostik deutlich entlasten. Er bietet die Möglichkeit, große Mengen an LDTs automatisiert zu bearbeiten.*

### **Bisheriger LDT-Workflow mit Schwächen**

2009 erkrankte in Deutschland erstmals ein Mensch an der Infektion mit einem bis dato unbekannte Subtyp des Influenza-A-Virus H1N1, allgemein bekannt als Schweinegrippevirus ([www.who.int/csr/disease/swineflu/en/](http://www.who.int/csr/disease/swineflu/en/), Stand 31.05.2016).

Die nachfolgende Pandemie hatte zur Folge, dass unser Labor jeden Tag 800–1000 Patientenproben zunächst auf Influenza A/B und

anschließend spezifisch auf den H1N1-Subtyp testen musste.

Dieses „tsunamimäßige“ Probenaufkommen ließ sich nur durch einen enormen Zeitaufwand und die Bereitstellung aller Personalkapazitäten bewältigen. Die zeitliche und personelle Extrembelastung war neben der Probenmenge selbst auch dem LDT-Workflow für H1N1 geschuldet. Sechs bis acht Stunden war ein Labormitarbeiter damit beschäftigt, die spezifische Subtypentestung abzuarbeiten. Erst nach Ende der glücklicherweise zeitlich begrenzten Schweinegrippe-Pandemie war eine Rückkehr in den normalen Laboralltag möglich.

Die Ausnahmesituation während der Schweinegrippe-Pandemie führte uns die Schwächen unseres bisherigen LDT-Workflows zur Abarbeitung großer Probenaufkommen deutlich vor Augen. Grundsätzlich benötigte jeder von uns entwickelte PCR-basierte Test eine individuelle Probenvorbereitung und Amplifikation zum Nachweis des Erregerguts. Folglich besaß unser Labor eine

große Anzahl unterschiedlicher Geräte zur Nukleinsäureaufreinigung und verschiedene Real-Time-PCR-Systeme. In der täglichen Routine wurden so beispielsweise vier individuelle Workflows für fünf verschiedene LDT-Parameter täglich von jeweils einer geschulten Person pro Workflow abgearbeitet. Ein Personalausfall oder -engpass ließ sich fast nicht auffangen. Darüber hinaus gestaltete sich sowohl die Nachverfolgung der Proben zwischen einzelnen Bearbeitungsschritten als auch die eventueller Fehler bei der Testung als sehr schwierig.

### **Utility Channel schafft Kapazitäten**

Seit Beginn des Jahres arbeiten wir im Labor MVZ Dr. Stein & Kollegen in Mönchengladbach mit dem cobas 6800 System. Dies bietet für unseren Laboralltag zwei wesentliche Vorteile:

- die Quantifizierung von HIV-1, HCV, HBV und CMV mit CE-IVD-Testen von Roche, die vorher mit Testsystemen verschiedener Hersteller erfolgte
- die automatisierte Durchführung von LDTs auf dem cobas omni Utility Channel.

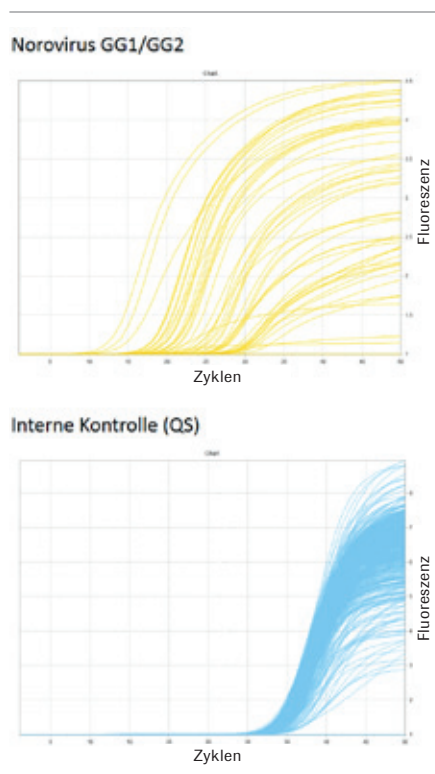


Abb. 1: **Beispiel einer LDT-Analyse mit dem cobas 6800 System.** Die gelben Kurven repräsentieren die spezifischen Signale für die Noroviren. Die blauen Kurven zeigen den Verlauf der internen Kontrolle an. Anhand der spezifischen Signale wird deutlich, dass das cobas 6800 System sowohl stark positive Proben ( $Cp^* \geq 10$ ) als auch Proben mit einer geringen Viruslast ( $Cp^* \geq 30$ ) zuverlässig detektiert. Beeindruckend ist auch die Qualität der internen Kontrolle, die einen Hinweis auf die Nukleinsäureextraktion und inhibitorische Effekte gibt. Bei allen Proben sowie der Wasserkontrolle wird ein konstanter  $Cp^*$  von  $32 \pm 1$  erreicht. Die Wiederholungsrate für nicht valide Proben wird somit auf ein Minimum reduziert. (\*Einheit cp = crossing point oder auch ct = cycle threshold)

Auf diese Weise konsolidieren wir verschiedenste Parameter und können das System effektiv auslasten.

Aktuell nutzen wir den Utility Channel zur Testung von Stuhlproben auf Noroviren (Genogruppe 1/2) und *Clostridium difficile* (Toxin A/B). Bereits bei der Entwicklung dieser LDTs hat uns die einfache Bedienung des Systems begeistert. Zwei bis drei Wochen haben wir dann gebraucht, bis die neuen Tests auf dem Utility Channel des cobas 6800 Systems etabliert und validiert waren.

Die Austestung eigener Primer und Sonden erfolgte zunächst auf einem externen Real-Time-PCR-System, um deren optimale Konzentrationen zu ermitteln, ohne das cobas 6800 System in der täglichen Routine belegen zu müssen. Nach diesem Schritt wurde der Assay auf den Utility Channel von cobas 6800 transferiert. Anfangs war die Frage, ob sich Stuhl als Probenmaterial überhaupt eignet, da der Utility Channel für die Testung von Serum und Plasma validiert ist. Es hat sich jedoch schnell gezeigt, dass sich mit der üblichen Probenvorbereitung auch Stuhlproben problemlos verwenden lassen.

Vergleicht man herkömmliche, aufwändige Workflows zur Testung von LDTs mit dem neuen Prozess auf dem Utility Channel, so bleibt ein manueller Arbeitsschritt übrig: die Vorbereitung der Reagenzkassette, d. h. Einfüllen von Primern und Sonden. Danach entspricht die Durchführung der LDTs dem aller anderen Assays auf dem cobas 6800 System – Patientenproben und Reagenzien laden und Ergebnisse am Ende eines Testlaufs abrufen.

Früher waren mehrere Labormitarbeiter bis zu acht Stunden mit der Abarbeitung verschiedener LDT-Parameter in unterschiedlichen Workflows beschäftigt. Heute genügt ein Labormitarbeiter, um das cobas 6800 System für die parallele Testung verschiedener CE-IVD- und LDT-Parameter zu bedienen. Die so gewonnenen wertvollen Kapazitäten nutzen wir auf vielfältige Weise, beispielsweise für zeitintensive Einzeltestungen auf seltene Erreger. Zudem muss nicht jeder unserer Mitarbeiter, der – vielleicht nur vorübergehend – mit der Testung der LDT-Proben am cobas 6800 System betraut wird, über PCR-Expertise verfügen. Die einfache Abarbeitung aller Patientenproben an diesem Gerät, egal ob HIV-1 oder Norovirus, lässt uns auf Ausfälle durch Krankheit oder Personalengpässe durch Urlaubszeiten gelassener reagieren.

### Utility Channel schafft Optionen

Mit Blick auf die Testperformance können wir feststellen, dass – nach Berücksichtigung einiger Tipps und Tricks – die Performance der Norovirus- und Clostridienassays vergleichbar, wenn nicht sogar besser als die der bisherigen Tests ist (Abb. 1). Neben den offensichtlichen Prozessvorteilen haben uns diese Ergebnisse endgültig darin bestärkt, die Testung von Noroviren und Clostridien ab sofort nur noch über den Utility Channel abzuarbeiten.

Darüber hinaus werden wir weitere LDT-Parameter evaluieren, beispielsweise mit verdünntem Vollblut als Probenmaterial. Dies ermöglicht es, sowohl die Testung virologischer und bakterieller als auch genetischer Parameter, wie z. B. Faktor II/V-Mutationen über den Utility Channel in Betracht zu ziehen. Und – last but not least – können wir ohne größere Beeinträchtigung der täglichen Routine zusätzlich an Studien teilnehmen.

Mit den bisher gewonnenen Erfahrungen und Dank des Utility Channels auf dem cobas 6800 System sehen wir – zumindest hinsichtlich des Probenaufkommens und der Testung – zukünftigen Pandemien gelassen entgegen.

### Korrespondenzadresse



Dr. rer. nat. André Frontzek  
Molekulare Diagnostik  
Labor Mönchengladbach  
MVZ Dr. Stein + Kollegen GbR  
Tomphecke 45  
41169 Mönchengladbach  
afrontzek@labor-stein.de