

Hans-Joachim Burkardt<sup>1</sup>

# Automation in der molekularbiologischen Diagnostik – kommt die «Molekularbiologiestrasse»?

Seit der Erfindung der PCR (Polymerase-Kettenreaktion) in den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts durch Kary Mullis hat diese Technologie – als wichtigste und am weitesten verbreitete molekularbiologische diagnostische Methode – eine rasante Entwicklung in Richtung Automation erlebt. Eine ursprünglich rein für das Forschungslabor gedachte Technik konnte innerhalb weniger Jahre in so hohem Grade standardisiert und maschinisiert werden, dass sie heute zu einem der Standardverfahren im medizinischen Diagnoselabor zählt.

Diese Entwicklung ist umso beeindruckender, wenn man sie mit der übrigen Labormedizin vergleicht: In der klinischen Chemie – die zugegebenermassen heute einen sehr hohen Grad der Automatisierung erreicht hat und damit der Molekularbiologie noch voraus ist – hat diese Entwicklung etwa 100 Jahre gedauert, ganz zu schweigen von der klassischen Mikrobiologie (Bakteriologie), wo es erst jetzt nach fast 200 Jahren zu zaghaften Ansätzen einer vollen Automatisierung kommt.

## Schritt für Schritt

Dabei waren die technischen Herausforderungen zu einer Automatisierung der PCR nicht trivial. Ein klassischer diagnostischer PCR-Test erfordert drei sehr unterschiedliche Arbeitsschritte:

1. die Nukleinsäureextraktion
2. die eigentliche PCR-Reaktion (Amplifikation) und
3. die Detektion der Amplifikate.

Eine Automatisierung dieser drei Schritte stellte unterschiedlich hohe Herausforderungen dar, und dementsprechend war die Amplifikation historisch das Erste, weil einfachste, was automatisiert werden konnte. Das wurde erreicht durch die Entwicklung sogenannter Thermalcycler, die die bis dahin verwendeten manuell zu bedienenden Wasserbäder bzw. Hitzeblöcke ablösen. In einem nächsten Schritt wurde die Detektion mit Hilfe der «magnetic bead»-Technologie automatisiert, die die bis dahin verwendeten Mikrotiterplatten-Verfahren und die DNA-Gelelektrophorese zum grossen Teil obsolet machten. Zweckmässigerweise wurden Amplifikation und Detektion in einem System vereinigt,

und das erste Gerät, das mit diesen Eigenschaften auf den Markt kam, war der «COBAS® AMPLICOR» von Roche Diagnostics, der 1994 lanciert wurde. Parallel dazu wurden von mehreren Diagnostikern Extraktoren entwickelt, die die Nukleinsäuren (DNA und/oder RNA) aus Patientenproben meist ebenfalls mit Hilfe der «magnetic bead»-Technologie automatisch extrahierten. Wurde ein solcher Extraktor mit einem Amplifikations-/Detektionssystem wie dem COBAS® AMPLICOR kombiniert, so war das tatsächlich der Anfang einer vollautomatisierten PCR und damit Voraussetzung für die Entwicklung einer «Molekularbiologiestrasse». Allerdings war man zu diesem Zeitpunkt von diesem Ziel noch weit entfernt, da diese Systeme noch Interventionen (z.B. Probentransfer) von einem Bediener benötigten und es auch keine übergreifenden Computer und Software gab, die die einzelnen Komponenten solcher «Linie» verwalten konnten.

## Ein Zeitsprung

Ein weiterer Quantensprung in Richtung Automatisierung gelang mit der Einführung der «real time»-PCR, ebenfalls durch Roche Diagnostics. Bei dieser Technologie erfolgt eine Signalzeugung zur Detektion bereits parallel mit der Amplifikation, und die Amplifikate können optisch im Amplifikationsröhrchen nachgewiesen werden. Damit sind nach der eigentlichen PCR-Reaktion keine weiteren Manipulationen erforderlich, was eine Automatisierung entscheidend vereinfacht (und auch die Sicherheit gegenüber Kontaminationen erhöht).

Wird ein solches «real time»-PCR-Gerät mit einem automatischen Extrak-

tor kombiniert, ist man dem Ziel einer automatischen Laborstrasse bzw. deren Kernstück bereits ziemlich nahe. Entsprechende Systeme werden zurzeit von verschiedenen Diagnostikaherstellern angeboten. Das in der Schweiz am weitesten verbreitete System in der Routine der Virologie – des momentanen Haupteinsatzgebiets der PCR-Technologie in der Diagnostik – ist der Roche COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® System (Abb.), in dem beide Teilgeräte mit einem Pater-noster verbunden sind, so dass NS-Extraktion, Amplifikation und Detektion tatsächlich vollautomatisch erfolgen, d.h., nach der Probenbeladung sind bis zum Erhalt der Resultate keine Eingriffe von Seiten des Operators notwendig.

## Screenings forcieren die Entwicklung

Allerdings ist auch mit diesen Systemen das Ziel einer «molekulardiagnostischen Strasse» noch nicht ganz erreicht; was noch fehlt, ist die Präanalytik, die, wie alle Experten in diagnostischen Laboratorien wissen, für die Qualität der Resultate einen sehr entscheidenden Einfluss haben kann und zudem für die Arbeitsbelastung im Labor oft einen wichtigen Faktor darstellt. Das gilt insbesondere für Massenuntersuchungen, die im Screening-Bereich anfallen. Diese sind auch die eigentlichen Treiber für die Entwicklung von Laborstrassen, und das gilt für den klinisch-chemischen Bereich genauso wie für die Molekularbiologie. Allerdings sind hier die echten Screening-Untersuchungen bisher eher selten. Als Beispiele wären zu nennen die in der Schweiz obligatorische NAT-Testung auf HBV, HCV und HIV (und

<sup>1</sup> Prof. Dr. Hans-Joachim Burkardt

in naher Zukunft HAV und Parvo B19) bei den Blutspenden und eine Zervixkrebsvorsorge aufgrund eines HPV-Screenings anstelle von oder zusammen mit dem «Pap»-Vorsorgeabstrich, was gerade in der Schweiz (wie in anderen entwickelten Ländern) heftigst diskutiert wird.

### Zugpferd Blutspenden

Das besondere bei der Präanalytik bei der NAT-Testung von Blutspenden ist, dass in den meisten Blutbanken in der Schweiz (und weltweit) aus ökonomischen Gründen eine sogenannte «Pooling-Testung» durchgeführt wird, d.h., es



COBAS® AmpliPrep/ COBAS® TaqMan® und das Hamilton MICROLAB STAR Pooling System stellen zusammen das cobas s 201 System dar. © Roche

werden nicht einzelne Blutspenden getestet, sondern eine Kombination von mehreren (in der Schweiz von sechs) Einzelspenden. Dieses Pooling wird ebenfalls automatisch durchgeführt in einem weiteren Gerät, welches dem COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® vorgeschaltet ist und zusammen mit diesen über einen gemeinsamen Computer und entsprechende Software gesteuert wird. Roche nennt diese Dreierkombination cobas s 201 System (Abb.), und sie ist mittlerweile in sechs Laborzentren in der Schweiz, die sich mit Blutspenden beschäftigen, im Einsatz.

Auch im Nicht-Blutspendebereich, in der Virologie, bietet die Industrie inzwischen präanalytische Systeme an, die wie in der klinischen Chemie Aliquots aus verschiedenen Primärrohren für die nachfolgende PCR-Analyse pipettieren, wie z.B. das cobas p 630 Präanalytik-System von Roche. Allerdings ist dieses Gerät wirklich nur für Laboratorien mit einem sehr grossen Probendurchsatz rentabel und daher in der Schweiz (noch) in keinem Labor installiert.


### Wie wird die nahe Zukunft aussehen?

Wie geschildert, ist die Automatisierung in der PCR-Diagnostik bereits weit vorangeschritten. Es gibt heute Systeme auf dem Markt, die Präanalytik, NS-Extraktion, Amplifikation und Detektion automatisieren, so dass keine oder nur minimale manuelle Interventionen von den Benutzern erforderlich sind. Ebenso sind «molekulardiagnostische Strassen» zumindest in Screening-Bereichen etabliert. Prinzipiell ist auch denkbar, dass solche Strassen in eine klinisch-chemische Laborlinie integriert werden können, ähn-



lich wie das bereits mit der Immunologie in den letzten Jahren passiert ist. Es bleibt allerdings die Frage, ob das wirklich Sinn macht: Bis auf wenige Ausnahmen (die oben erwähnt wurden) ist die Anzahl molekularbiologischer Analysen im Vergleich zu den klinisch-chemischen in den allermeisten Laboratorien eher gering. Die PCR-Technologie wird – vermutlich auch aus Kostengründen – in den meisten Fällen eine Spezialanalytik bleiben, aber lassen wir uns überraschen: In der PCR-Diagnostik wurden in der kurzen Zeitspanne seit ihrer Einführung bereits viele Anwendungen realisiert, die anfangs als unmöglich und/oder unrentabel galten.

Korrespondenz:  
hansjoachim.burkardt@googlemail.com  
041 790 01 76

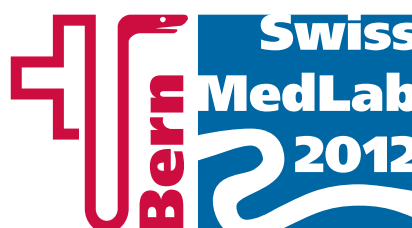
 Dieser Artikel ist mit der kooba Shortcut Bilderkennung verknüpft. Mit der App lassen sich Zusatzinfos und Links direkt auf Ihr Smartphone bringen.

## Automatisation dans le diagnostic de biologie moléculaire

Le diagnostic de biologie moléculaire – dans le cas présent, illustré au moyen de sa principale technologie, à savoir la PCR – a déjà atteint un degré élevé d'automatisation malgré son âge relativement jeune (ce n'est que depuis env. 30 ans que de nombreux laboratoires de diagnostic médical l'ont adopté de manière fixe).

Les étapes individuelles du test diagnostique par PCR, qui sont par ordre historique l'amplification, la détection, l'extraction de l'acide nucléique et la phase pré-analytique, ont successivement été standardisées, simplifiées et intégrées dans des machines. Il existe aujourd'hui des systèmes commercialisés par différents fabricants, qui combinent toutes ces étapes dans un même appareil ou dans une série d'appareils et qui sont commandés par un ordinateur commun avec un logiciel spécifique, de sorte qu'aucune ou presque aucune intervention manuelle ne doit être réalisée par l'opérateur durant un test. Bien entendu, cette automatisation est la plus répandue dans les domaines où les examens de dépistage se font par test de masse. L'exemple le plus parlant est le test d'amplification des acides nucléiques destiné à dépister des virus dans les dons de sang.

De tels systèmes représentent déjà aujourd'hui quasiment des «boulevards» dans le diagnostic moléculaire. Théoriquement, il serait logique d'intégrer de tels boulevards à ceux pour les tests de chimie clinique. Toutefois, il reste à savoir si cette mesure serait réellement pertinente compte-tenu des quantités d'échantillons à analyser. Ainsi, des développements supplémentaires sont attendus dans le futur (proche).



Kongress und Fachmesse der Labormedizin  
Congrès et foire de médecine de laboratoire  
12.–14. Juni 2012 | Bern | [www.swissmedlab.ch](http://www.swissmedlab.ch)