

# Sepsis-Erregerdiagnostik der nächsten Generation

Eine zuverlässigere und schnellere Diagnostik ermöglicht den Beginn einer frühen, spezifischeren Therapie zur Steigerung der Überlebensrate.

Dr. Silke Grumaz, Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB, Stuttgart

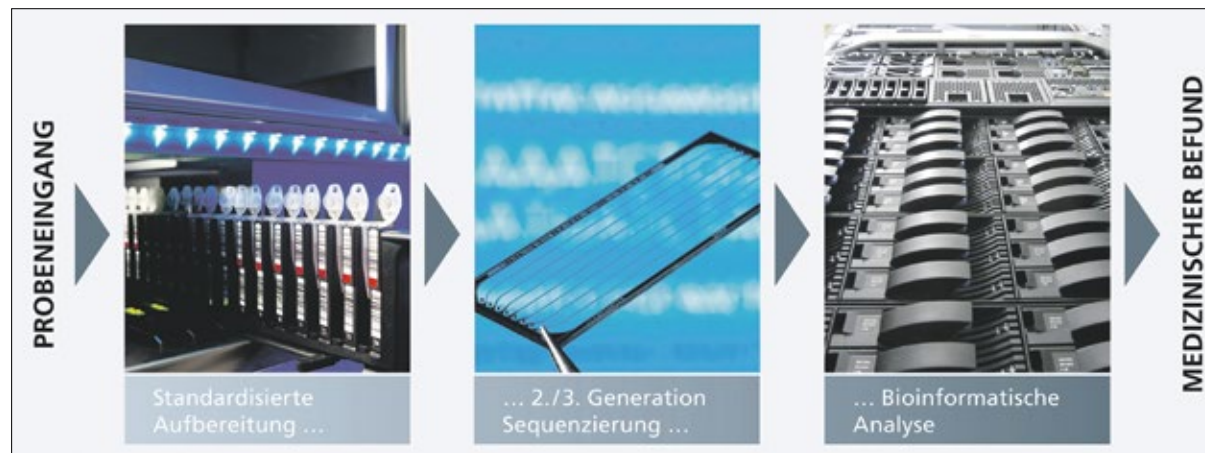
Die Sepsis, eine durch eine Infektion hervorgerufene systemische Entzündung, stellt eine der größten Herausforderungen für die Intensivmedizin dar und geht mit einer hohen Sterblichkeit der Patienten von über 55% einher. Trotz Fortschritten in der Medizin ist diese Zahl seit nahezu 20 Jahren unverändert.

Ein Grund hierfür ist die oft fehlende frühzeitige Diagnose und die schnelle Behandlung mit erregerspezifisch wirksamen Antibiotika, was entscheidend für das Überleben des Patienten ist. Dies ist jedoch nicht immer zielgerichtet möglich, da mit dem derzeitigen Standard, der Blutkultur, nur in etwa 30% der Fälle ein Nachweis des Erregers gelingt. Zudem dauert die mikrobielle Diagnostik zwei bis fünf Tage.

Alternative diagnostische Ansätze bieten molekularbiologische Techniken, die nicht auf eine vorherige Kultivierung des Erregers angewiesen sind, sondern diesen anhand seiner Erbinformation nachweisen. Forscher am Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB nutzen dabei die neuesten Entwicklungen im Bereich der Parallelsequenzierung (Next-Generation Sequencing, NGS), um ein schnelles, alternatives Diagnostikverfahren zur Verfügung zu stellen, mit dem Erreger in weniger als 24 Stunden identifiziert werden können. Mit dem NGS-gestützten Verfahren wird die Diagnose dabei nicht nur schneller, sondern auch deutlich zuverlässiger.

## Zirkulierende Nukleinsäuren

Am Fraunhofer IGB wird für dieses Verfahren eine besondere Molekülklasse, die frei zirkulierenden Nukleinsäuren aus Plasma und Serum (engl. Circulating Nucleic Acids



Dreistufiger Prozess zur molekularen Infektionsdiagnostik mittels NGS. Mit der automatisierten DNA-Isolierung (QIASymphony) und Bibliothekserstellung (Biomek FXP) lassen sich bis zu 96 klinische Proben gleichzeitig aufbereiten. Die Flowcell ist der Träger, auf dem die DNA-Fragmente gebunden werden und auf der die Parallelsequenzierung (Illumina) abläuft. Für die bioinformatische Auswertung werden proprietäre diagnostische Algorithmen eingesetzt.

in Plasma and Serum, CNAPS) genutzt. Die Konzentration dieser Nukleinsäuren ist bei bestimmten physiologischen oder pathologischen Prozessen im Blut durch einen größeren Anteil an neu gebildeten und absterbenden Zellen erhöht (z. B. bei Krebserkrankungen, Schlaganfällen oder in der Schwangerschaft). Deshalb wird diese Molekülklasse für die Diagnostik verschiedener onkologischer Erkrankungen sowie in der Pränataldiagnostik eingesetzt. Im Gegensatz zu bisherigen diagnostischen Verfahren kann durch Abnahme einer Blutprobe nicht-invasiv vorgegangen werden, daher wird das Vorgehen auch als Liquid Biopsy bezeichnet. Der Einsatz dieses Verfahrens ist auch für Sepsis-Patienten möglich, da neben humanen CNAPS auch bakterielle Nukleinsäuren im Plasma von Sepsis-Patienten zu finden sind.

## Verfahren etabliert

Am Fraunhofer IGB wurde ein neuartiges Verfahren etabliert, das mithilfe der Hochdurchsatzsequenzierung und eigens entwickelten Datenverarbeitungsalgorithmen nach mikrobiellen Nukleinsäuresequenzen in den CNAPS sucht und diese erregerspezifisch zuordnet und quantifiziert. Dies ist nicht trivial und erfordert ein hohes Maß an Sensitivität, da in der Regel über 99% der Nukleinsäuren einer solchen Probe humanen Ursprungs sind.

Im Rahmen einer klinischen Studie wurden, in Kooperation mit dem Uniklinikum Heidelberg, aus dem Plasma von Sepsis-Patienten CNAPS isoliert und das

neu etablierte Verfahren validiert. Dabei konnten für 50 Patienten mit septischem Schock im Vergleich zur Blutkultur deutlich mehr positive Ergebnisse zur Erregeridentifikation erzielt werden (71% gegenüber 11%). Eine Jury aus unabhängigen Intensivmedizinern betrachtete 96% der positiven NGS-Ergebnisse als plausibel. Insbesondere wäre anhand dieser Resultate die Therapie von 53% der Patienten

nachträglich angepasst worden, da diese, basierend auf der empirischen Antibiose, oft über- oder untertherapiert waren. In der Gruppe dieser nicht adäquat behandelten Patienten war die Sterblichkeit der Patienten um 13% erhöht.

Diese konkreten Auswirkungen auf den Behandlungserfolg der Patienten zeigen eindrücklich das enorme Potential, das eine zuverlässigere, sensitivere

Erregerdiagnostik mit sich bringt. Mit dem neuen Verfahren ist außerdem der Nachweis sehr unterschiedlicher Erreger, wie z.B. Viren, Bakterien und Pilze, gleichzeitig in einem einzigen Verfahren möglich – und das innerhalb von nur einem Tag.

Zudem konnte gezeigt werden, dass bei entsprechend hoher Abdeckung des Bakteriengenoms sogar ein Nachweis von Antibiotika-Resistenz vermittelnden Genen in der gleichen Analyse möglich ist. Für die klinische Praxis ist dies von höchster Bedeutung, da dem behandelnden Arzt so eine schnelle und gezielte Therapieentscheidung ermöglicht wird.

## Validierungsstudie in Planung

Da sich das Feld der Sequenziertechnologien sehr dynamisch weiterentwickelt, wird daran gearbeitet, das Verfahren auf verschiedene Sequenzierplattformen zu übertragen, um die Zeit von der Probe zur Diagnose noch stärker verkürzen zu können. Mit einigen dieser Technologien rückt die Diagnose innerhalb eines Zeitraums von sechs bis acht Stunden in greifbare Nähe und bietet somit einen entscheidenden Vorteil für das Patientenmanagement. Für das Jahr 2019 ist zudem



Dr. Silke Grumaz

eine multizentrische Validierungsstudie mit etwa 15 renommierten klinischen Partnern in Planung. Die Methodik hat außerdem das Potential, auf andere infektiöse, schwer zu diagnostizierende Erkrankungen angewandt zu werden.

| www.igb.fraunhofer.de |

## Multiresistente Tuberkulose

Wissenschaftler unter der Leitung des Forschungszentrums Borstel und des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung konnten in einer Studie die Anpassungsfähigkeit von Tuberkulose-Bakterien in der Ära der Antibiotika zeigen.

Britta Weller, Forschungszentrum Borstel – Leibniz Lungenzentrum, Borstel

Warum können sich multiresistente Krankheitserreger immer weiter ausbreiten und wie schnell entwickeln sich Resistenzen gegen neue Medikamente? Um diese Fragen zu beantworten, haben Prof. Matthias Merker und Prof. Stefan Niemann vom Forschungszentrum Borstel und dem Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DZIF) gemeinsam mit 13 weiteren renommierten Wissenschaftlern einen Ausbruch von multiresistenten TB-Bakterien in Usbekistan untersucht.

Durch die Analyse des gesamten Erbgutes der TB-Stämme konnten die Forscher die Entstehung einzelner Antibiotika-Resistenzen bis in die Zeiten der Sowjetunion zurückdatieren. In dieser Zeit gab es keine einheitlichen Behandlungskonzepte, wichtige Antibiotika für die Behandlung von einer resistenten TB waren in Apotheken frei verfügbar, und in der Regel gab es keine Resistenzdiagnostik für die

eingesetzten Medikamente. Zudem ging man davon aus, dass multiresistente Stämme in ihrem bakteriellen Wachstum sehr eingeschränkt sind und nur in einzelnen Fällen von Patient zu Patient übertragen werden können.

## Schnelle und verfügbare Diagnostik

„Bei den heutigen multiresistenten Ausbrüchen finden wir jedoch immer häufiger kompensatorische Mutationen, die dieses Wachstumsdefizit ausgleichen. Das könnte wiederum zu einer erhöhten Übertragungsrate führen und dann zu weiteren Resistenzen“, erläutert Prof. Matthias Merker, einer der Erstautoren der Studie. Der Selektionsdruck durch die eingesetzten Medikamente und die schnelle Anpassung der TB-Bakterien brachte in Zentralasien einen besonders resistenten TB-Stamm hervor. Nahverwandte Vertreter dieses Stammes wurden ebenfalls in Russland und bei deutschen Patienten identifiziert. „Besonders besorgniserregend sind die hohen Resistenzraten und die Verbreitung dieser Bakterien über weite Teile Zentralasiens, Ost- und Mitteleuropas. Dies gefährdet vor allem den Erfolg neuer Medikamente und moderner Kombinationstherapien“ so Prof. Stefan Niemann, Leiter der Studie am Forschungszentrum Borstel und Koordinator des Forschungsbereichs „Tuberkulose“ im DZIF. „Um dieser Entwicklung vorzubeugen, bedarf es einer schnellen und weit verfügbaren Diagnostik, welche eine maßgeschneiderte, individualisierte Therapie für jeden Patienten mit einer multiresistenten Tuberkulose ermöglicht“, so Niemann.

| www.fz-borstel.de |

## Alere™ i heißt jetzt ID NOW™

Ärzte müssen medizinische Entscheidungen oft allein auf Grundlage von Symptomen treffen.<sup>1,3</sup> Aus diesem Grund wurde ID NOW als echtes POC-Instrument entwickelt. Beschleunigen Sie die richtige therapeutische Entscheidung für Patienten und das Patientenmanagement. Kontaktieren Sie Ihren Abbott Ansprechpartner oder besuchen Sie alere.com für ausführlichere Informationen.



- Schnelle molekulardiagnostische Ergebnisse in weniger als 13 Minuten.
- Intuitives und benutzerfreundliches System – erfordert nur minimale Einarbeitung
- Kleine Stellfläche – kann überall flexibel eingesetzt werden
- Datenübertragung zu elektronischer Patientenakte und Laborinformationssystemen

1. Stein, J. et al. Performance characteristics of clinical diagnosis, a clinical decision rule, and a rapid influenza test in the detection of influenza infection in a community sample of adults. *Annals of Emergency Medicine*, 2005; 46(5): 412-9.  
2. Mills, J. et al. Rapid testing for respiratory syncytial virus in a paediatric emergency department: Benefits for infection control and bed management. *The Journal of Hospital Infection*, 2011; 77(3): 248-51.  
3. Cohen, J.F. et al. Rapid antigen detection test for group A streptococcus in children with pharyngitis. *Cochrane Database of Systematic Review*, 2013; 5-7. doi: 10.1002/14651858.cd010502.  
© 2018 Abbott. Alle Rechte vorbehalten. Alle erwähnten Warenzeichen sind entweder Marken der Abbott Unternehmensgruppe oder der jeweiligen Unternehmen. Alle abgebildeten Fotos dienen nur illustrativen Zwecken. Jede in diesen Fotos dargestellte Person ist ein Modell. IDDM151113 120004616-01 10/18