

# Molekularbiologische Testungen

*Enno Stürenburg, Norbert Gässler, Aline Schröder, Uwe Reischl*

- 10.1 Einleitung – 86
- 10.2 Integrierte und miniaturisierte Systeme – 86
- 10.3 Auswahlkriterien patientennaher Systeme – 87
- 10.4 Systemkonzepte zur Verkürzung der Analysenzeit – 88
- 10.5 Spektrum der molekularbiologischen Nachweise – 92
- 10.6 Fazit für die Infektiologie – 92
- Literatur – 93

## 10.1 Einleitung

In keinem anderen Bereich der Medizin gehören molekularbiologische Testungen inzwischen so sehr zum diagnostischen Standardrepertoire wie im Bereich der Infektionsdiagnostik. Der Hauptvertreter dieser Technologie ist die Polymerasekettenreaktion, kurz PCR. Der Grund für die weite Verbreitung liegt in der Schnelligkeit und Empfindlichkeit, mit der sich mittels PCR die ätiologischen Umstände einer Infektion klären lassen. Mit der klassischen mikrobiologischen Diagnostik vergehen in der Regel mindestens 36–48 Stunden, bevor die ersten Ergebnisse aus der Kultur und der Resistenztestung vorliegen. So lange zu warten kann für den Patienten tödlich sein, und deshalb ist die Einleitung der kalkulierten antibiotischen Therapie in der Regel die Strategie der Wahl. Je nach Schwere der Infektion wird ein mehr oder weniger breit wirksames Antibiotikum gewählt, ohne dass man den ursächlichen Erreger und das Spektrum einer möglichen Antibiotikaresistenz genau kennt. Die Resistenzbildung ist ein ungewollter Nebeneffekt eines solchen Einsatzes von Antibiotika [4].

Eine schnellere und gezielte Diagnostik bieten die direkten Erregernachweise, die ohne Kultur auskommen und nur die reine Analysezeit benötigen. Für den Direktnachweis haben sich im Laufe der letzten Jahre hauptsächlich zwei Methoden durchgesetzt, von denen die PCR die eine Methode darstellt. Neben der PCR hat sich die Immunchromatographie, die häufig in Form von Teststreifen (»lateral flow assay«) oder Testkarten angeboten wird, etabliert (► Kap. 9). Ein wesentlicher Vorteil der Streifentests besteht darin, dass sie eine äußerst einfache Handhabung und Schnelligkeit bei zugleich moderaten Kosten aufweisen. Allerdings lässt die Leistungsfähigkeit älterer Systeme teilweise zu wünschen übrig und zudem müssen für die Etablierung von »immunologischen Schnelltests« generell spezifische Antikörperantworten erfolgen (beim Antikörpernachweis) oder spezifische Antikörper (beim Antigennachweis) für die entsprechenden Zielorganismen verfügbar sein. Problematisch sind auch Situationen, in denen mit einer geringen Erregerdichte zurechnen ist, hier ist der Einsatz der PCR aufgrund der höheren Sensitivität oftmals die bessere Wahl [4]. Vorteilhaft an der PCR ist insbeson-

dere die Möglichkeit, neben der primären Funktion des Erregernachweises die Simultananalyse von Resistenzdeterminanten oder Virulenzfaktoren einzubinden. Im Zeitalter der »multiresistenten (Krankenhaus-)Keime« gewinnt die schnelle und zuverlässige molekularbiologische Differenzierung vor den Hintergrund einer unmittelbaren Einleitung von möglichst frühzeitigen und damit auch effizienten Isolierungsmaßnahmen von betroffenen Patienten zunehmend an Bedeutung.

## 10.2 Integrierte und miniaturisierte Systeme

Aufgrund einer Vielzahl von manuellen Arbeitsschritten galt die PCR lange als ein reines Laborverfahren. Dies hat sich inzwischen tiefgreifend geändert und die Liste der molekularbiologischen Verfahren, die sich im Prinzip auch patientennah durchführen lassen, wird immer länger. Ermöglicht wurde die Erweiterung für den Bereich der patientennahen Anwendung durch die Entwicklung von **integrierten Einzeltest-Kassetten**systemen, in denen alle Schritte der PCR in einem geschlossenen Kunststoff-Testträger ablaufen. Da die Reagenzien diesen Testkassetten bereits einsatzfertig beige packt sind (unit-use), reduziert sich der Arbeits-einsatz eines Anwenders dieser Systeme auf die Einbringung der Probe und den Start des PCR-Laufes. Nach dem Start vermischt sich die Probe mit lyophilisierten Reagenzien, wodurch der Aufschluss der Probe zustande kommt. Durch Flüssigkeitsbewegungen gelangt die Reagenzien-Mischung dann über in den Kunststoff eingegossene Stege oder Kanäle in weitere Reaktionskammern, wo die nächsten PCR-Verfahrensschritte (DNA-Amplifikation und Signaldetektion) ablaufen. Durch Variation der Reagenzien lassen sich die Testkassetten leicht auf die unterschiedlichsten Erregernachweise anpassen.

Neuartige Systeme bieten nicht nur eine Abarbeitung in Form von Einzeltest-Kassetten, sondern zeichnen sich auch durch eine zunehmende **Miniaturisierung** aus. Dieser Trend vollzieht sich sowohl an den Testkassetten als auch an den Thermo-elementen und der Steuerelektronik. Mittlerweile sind Tischgeräte auf dem Markt, die nicht mehr

Platz beanspruchen als ein kleiner Kaffeeautomat. Wenn sich die Entwicklung in dieser Weise fortsetzt, sind in der nächsten Gerätegeneration Handgeräte (hand helds) zu erwarten, die eine volle Portabilität und damit eine weitgehende Unabhängigkeit von stationärer Technik bieten. Im Kontext infektiologischer Fragestellungen ist der Trend zur zunehmenden Miniaturisierung jedoch nicht immer als Fortschritt zu betrachten. Aufgrund des meist heterogenen Probenmaterials (Abstriche, Punktate, Biopsiematerial o. ä.) und der oft sehr inhomogenen Verteilung der einzelnen Erreger innerhalb des Probenmaterials sind mit der Untersuchung von kleineren Aliquots methodenbedingt meist mehr oder weniger deutliche Einbußen hinsichtlich der erzielbaren Sensitivität des Erregernachweises verbunden. Dieser Aspekt sollte bei Miniaturisierungsbestrebungen im mikrobiologisch-diagnostischen Umfeld stets bedacht werden [5].

### 10.3 Auswahlkriterien patientenaher Systeme

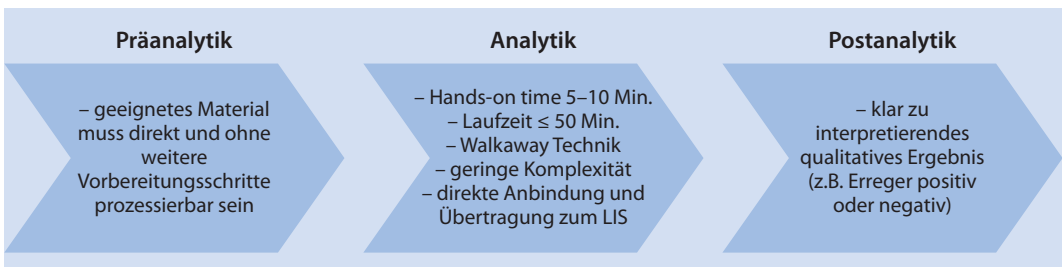
Damit ein patientennahes Diagnostiksystem zu einer relevanten Verbesserung der medizinischen Versorgung führt, muss es sich möglichst reibungsfrei in den klinischen Prozess eingliedern lassen. Die zentrale Herausforderung besteht oftmals darin, dass in der Regel Personal, welches keine laborspezifische Ausbildung besitzt (also z. B. in der zentralen Notaufnahme oder auf der Intensivstation), mit der Durchführung der Diagnostik betraut wird. Die Gefahr, dass es in einer solchen Situation aufgrund von Zeitmangel und fehlender (Labor-)Erfahrung zu unabsichtlichen Kontaminationsereig-

nissen, einer Fehlbedienung oder Fehldiagnostik kommt, ist von vornherein gegeben und darf nicht zusätzlich durch eine zu hohe Komplexität der verwendeten POCT-Technologie gesteigert werden. Eine sorgfältige Auswahl der verwendeten Diagnostiksysteme dient daher nicht nur dem Schutz des Patienten, sondern auch der Reduktion der Belastung und Verantwortung für das Personal.

#### Hinweis

Eine mit der Situation am geplanten Einsatzort sorgfältig abgestimmte Auswahl eines patientennahen molekularbiologischen Diagnostiksystems dient dem Schutz vor diagnostischen Fehlbestimmungen und reduziert die Verantwortung und Belastung des durchführenden Personals.

Welche Auswahlkriterien maßgeblich sind, lässt sich am besten verstehen, wenn man sich die Erstellung einer Diagnose als eine Abfolge von drei Schritten (Präanalytik, Analytik und Postanalytik) vergegenwärtigt. Ein positiver Gesamteffekt kommt nur dann zustande, wenn in jedem Teilschritt die Merkmale der ausgewählten Technologie zur Situation am Einsatzort passen (▣ Abb. 10.1). In Bezug auf die Präanalytik bedeutet dies, dass die Art und Menge des Untersuchungsmaterials, aus dem die Analyse erfolgt, vorgabenkonform ausgewählt wird und die Probe direkt, d. h. ohne Probenvorbereitung, eingesetzt werden kann. Diese Vorgabe kann nur durch PCR-Systeme mit integrierter Probenvorbereitung erfüllt werden, andere Systeme scheiden von vornherein aus (► Abschn. 10.2). Im Umfeld der Medizinischen Mikrobiologie muss aus praktischer Erfahrung explizit darauf hingewiesen wer-



▣ Abb. 10.1 Auswahlkriterien für patientennahe molekularbiologische Diagnostiksysteme

den, dass ein Nukleinsäure-gestützter Erregerdirektnachweis nur aus solchen Probenmaterialien Sinn macht, die den gesuchten Erreger selbst auch mit hoher Wahrscheinlichkeit in nachweisbarer Menge enthalten [5].

Unter analytischen Gesichtspunkten sind neben der Testgeschwindigkeit (► Abschn. 10.4) die technische Komplexität und die Personalbindung ausschlaggebend. Nur einfach durchführbare und robuste Technologien kommen in der Alltagshektik einer Intensivstation oder einer zentralen Notaufnahme infrage. Optimal im Sinne einer niedrigen Personalbindung sind diejenigen Systeme, deren Handhabungszeit (hands-on time) sich auf die Einbringung der Proben und den Start der Reaktion reduziert und bei denen die Reaktion nach dem Start vollautomatisch abläuft, sodass sich das Personal wieder anderen Aufgaben zuwenden kann (Walk-away-Funktion). Unter dem Aspekt der Ergebnisauslesung und -interpretation (Postanalytik) ist zu fordern, dass ein Ergebnis ausgegeben wird, das für sich selbst steht und keiner weiteren Interpretation bedarf (also z. B. »Erreger nachgewiesen/nicht nachgewiesen« bzw. »Mutation vorhanden/nicht vorhanden«). Komplexere Ergebnismitteilungen (z. B. die Ergebnisse einer Multiplex-PCR) sollten in der Verantwortung eines Facharztes für Mikrobiologie liegen. Das Ergebnis einer dezentral erhobenen PCR-Analyse sollte unmittelbar und automatisiert in das jeweilige Labor-EDV-System übertragen werden, um kumulative Befundinterpretationen (z. B. in der Mikrobiologie oder Infektiologie) zu ermöglichen.

In ■ Tab. 10.1 sind exemplarisch einige der aktuellen molekularen Diagnostiksysteme aufgeführt, die die oben genannten Auswahlkriterien weitgehend erfüllen und die aufgrund ihrer Testgeschwindigkeit (► Abschn. 10.4) für den patientennahen Einsatz geeignet sind. Daneben gibt es aber auch weitere Neuentwicklungen kleinerer Firmen, die sich mit innovativen Reagenzien- und/oder Gerätekonzepten ebenfalls auf dem Markt bewähren wollen. Ein Beispiel ist das PDQeX 2400 der Fa. ZyGEM (Hamilton, New Zealand).

## 10.4 Systemkonzepte zur Verkürzung der Analysenzeit

Eines der wichtigsten Kriterien, mit denen sich ein molekulares Diagnostiksystem für den patientennahen Einsatz qualifizieren muss, ist die Testgeschwindigkeit. Seit vielen Jahren ist die über drei Temperaturstufen ablaufende PCR der methodische Standard innerhalb der Nukleinsäure-Amplifikation. Das GeneXpert-System der Firma Cepheid war das erste patientennahe PCR-System mit Marktreife und markiert seit seinem Markteintritt den Standard innerhalb der molekularen Systeme [12, 13]. Die Palette der zur Verfügung stehenden GeneXpert-Testkartuschen wurde in den letzten Jahren stetig erweitert und ist inzwischen auf über 20 angewachsen (■ Tab. 10.1 und ■ Abb. 10.2). Da die PCR Laufzeiten selbst mit dem GeneXpert-System noch immer mindestens 45–60 Minuten betragen und daher unter POC-Gesichtspunkten nicht so unmittelbar zur Verfügung stehen wie das Ergebnis eines Streifenfestes, wurde bei den Testherstellern intensiv an der Entwicklung noch schnellerer Technologien gearbeitet. Durch geschickte Prozessoptimierungen konnte die Test-Geschwindigkeit der klassischen PCR weiter gesteigert werden.

Ein Beispiel für diese Art der Beschleunigung stellt das von Roche angebotene LIAT-System (LIAT, lab in a tube) dar (■ Abb. 10.3) [8, 9]. Die Testkassette ist in Form eines kleinen Röhrchens (tube) gestaltet. Das Röhrchen enthält alle erforderlichen Reagenzien, diese liegen innerhalb eines proprietären Kunststoffschlauchsystems in kleinen Kammern vor, die hintereinander angeordnet sind und von der Probe nach dem Beschicken schrittweise durchlaufen werden. Im Analysegerät selbst bewegt sich die Flüssigkeitssäule des Reagenziengemisches nur noch auf und ab und wird so den unterschiedlichen Temperaturzonen der PCR zugeführt. Durch das simple Bewegungsprinzip (»auf und ab«) benötigt die PCR-Reaktion nur einen sehr kleinen Raum und lässt sich erheblich beschleunigen [8, 9]. Definitive Ergebnisse liegen mit dem LIAT-System, je nach erregerspezifischer Applikation, innerhalb von 20 min oder weniger vor und erfüllen daher wesentlich besser die zuvor aufgeführten POC-Kriterien zur raschen Unterstützung einer Vor-Ort Behandlungsentscheidung (■ Tab. 10.1).



▣ **Abb. 10.2** GeneXpert Omni. (Mit freundlicher Genehmigung von Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)



▣ **Abb. 10.3** LIAT. (Mit freundlicher Genehmigung von Roche Diagnostics, Mannheim)

Auch das io-System der Firma Atlas Genetics stellt eine Prozessoptimierung der PCR dar, die im Ergebnis zu einer Beschleunigung im Reaktionsablauf führt. Die Amplifikate werden in der io-Kas-

sette durch eine besondere (elektrochemische) Nachweisreaktion detektiert, die so schnell ist, dass das PCR-Ergebnis bereits nach 30 Minuten vorliegt [10, 11]. Aktuell steht das io-System hauptsächlich für Testungen im Bereich der sexuell übertragbaren sowie der nosokomialen Infektionen zur Verfügung (▣ Tab. 10.1).

Neben der klassischen PCR steht mittlerweile eine Reihe von alternativen **Nukleinsäureamplifikationstechniken** zur Verfügung [1–3]. Historisch betrachtet wurden derartige Verfahren in Zeiten einer äußerst restriktiv gehandhabten PCR-Lizenzvergabe von solchen Diagnostika-Herstellern entwickelt, die im Bereich der Nukleinsäurediagnostik den Patentschutz der PCR umgehen wollten. Von der Vielzahl der PCR-Alternativtechnologien, z. B. branched DNA-Signalamplifikation (bDNA), loop-mediated isothermal amplification (LAMP) und Rekombinase-Polymerase-Amplifikation (RPA), sind bisher nur wenige zur vollen Marktreife gelangt und viele Assays, die entwickelt worden sind, bedienen lediglich einige ausgewählte Nischen-Applikationen.

Die bisher erfolgreichste und weitesten fortgeschrittene Technologie unter den PCR-Alternativen ist die **isothermale Amplifikation** [3]. Isothermal bedeutet, dass im Gegensatz zur herkömmlichen PCR, in der drei Temperaturstufen zyklisch durchlaufen werden, eine kontinuierlich fortschreitende Amplifikationsreaktion bei gleichbleibender Temperatur (»isotherm«) stattfindet. Der gesamte Prozessablauf und die Testlaufzeiten sind dadurch nicht nur erheblich schneller, sondern auch die Instrumentierung ist einfacher, da methodenbedingt die Notwendigkeit von repetitiven Thermozyklen entfällt und nur noch ein Temperaturniveau angesteuert werden muss. Im Vergleich zur PCR werden mit dem isothermen Reaktionsverlauf konzeptbedingt gewisse Einbußen in der Spezifität der Hybridisierungsereignisse erkauft, was sich aber durch ausgeklügelte Optimierung und den Zusatz von verschiedenen enzymatischen und biochemischen Reaktionskomponenten in vielen Applikationsbereichen dennoch als diagnostisch hinreichend erwiesen hat [3]. Im POCT-Bereich sind inzwischen die ersten kommerziellen Assays auf dem i-System der Firma Alere lassen sich beispielsweise Influenza

■ **Tab. 10.1** Übersicht patientennaher molekularbiologischer Diagnostiksysteme (die angegebenen Zahlenwerte stellen die Analysenzeiten in min dar)

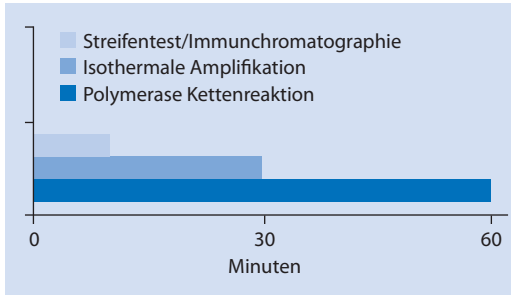
System/ Hersteller	Verfahren	Einzeltest/Duplextest/Multiplex	Sexuell übertragbare Infektionen								Respiratorische Infektionen			
			Humanes Immundefizienzvirus (HIV) <sup>a</sup>	Hepatitis-B-Virus (HBV)	Hepatitis-C-Virus (HCV)	Humanes Papillomavirus (HPV)	Gruppe-B-Streptokokken	Chlamydia trachomatis	Neisseria gonorrhoeae	Trichomonas vaginalis	Mycoplasma genitalium	Influenza A und B	Respiratorisches Synzytialvirus (RSV)	Gruppe A-Streptokokken
Alere i	ITA	ET,DT										15		8
Roche Cobas LIAT	PCR	ET										20		20
		MP										20	20	
Atlas io	PCR	ET							30	30	30	30		
		MP							30	30	30	30		
Cepheid GeneXpert	PCR	ET, DT	90	<sup>b</sup>	105	60	52	90	90	40		75		
		MP										40	40	
Spartan RX	ARR													
bioMérieux FilmArray	ARR		<b>Meningitis/Encephalitis-Panel:</b> E. coli K1, Haemophilus influenzae, Listeria monocytogenes, Neisseria meningitidis, Streptococcus agalactia und pneumoniae,											
			<b>Respiratorisches Panel:</b> Adenovirus, Coronavirus (229E, HKU1, OC43, NL63), Humanes Metapneumovirus, Humanes Rhinovirus/Enterovirus,											
			<b>Gastrointestinales Panel:</b> Campylobacter (jejuni, coli & upsaliensis), Clostridium difficile (Toxin A/B), Plesiomonas shigelloides, Salmonella, Yersinia enterocolitica, Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus, & cholerae), E. coli O157, Enteroaggregative E. coli (EAEC), Enteropathogenic E. coli (EPEC), Enterotoxigenic E. coli (ETEC) lt/st,											

ITA isothermale Amplifikation; PCR Polymerase-Kettenreaktion; ARR Mikroarray mit vorgeschalteter PCR; ET Einzeltest; DT Duplextest; MP Multiplextest.

<sup>a</sup> auch quantitativ, als IVD-konforme Viruslast-Bestimmung

<sup>b</sup> seit 2016 auf dem Markt

Bedrohliche Infektionen			Nosokomiale Infektionen						Nicht-erregerbezogene Nachweise			
Ebolavirus	Enterovirus im Liquor	M. tuberculosis/Rifampicin-Resistenz	Norovirus	Clostridium difficile	Methicillin-resistente S. aureus (MRSA)	Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)	Carbapenem-res. Enterobakterien	Faktor II und Faktor V Mutation	BCR-ABL Transkriptionsprodukt	Zytochrom P450 Allel 2C19	Literatur	
											[6, 7]	
											[8, 9]	
			30	30	30						[10, 11]	
98	150	117	60	45	60	45	50	30	140		[12, 13]	
										60	[14]	
CMV, Enterovirus, HSV 1 und 2, HHV6, Humanes Parecho-Virus, VZV, Cryptococcus neoformans											[15, 16]	
Influenza A (A/H1, A/H1-2009, A/H3), Influenza B, Parainfluenza 1-4, RSV, Bordetella pertussis, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae												
Shiga-like toxin-producing E. coli (STEC) stx1/stx2 E. coli O157, Shigella/Enteroinvasive E. coli (EIEC), Adenovirus F 40/41, Astrovirus, Norovirus GI/GII, Rotavirus A, Sapovirus (I,II, IV, and V), Cryptosporidium, Cyclospora cayatanensis, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia												



▣ **Abb. 10.4** Vergleich der Laufzeiten konventionelle PCR vs. isotherme Amplifikation

A und B sowie Gruppe-A-Streptokokken nachweisen [6, 7]. Die Testlaufzeiten sind aufgrund der temperaturkonstanten Reaktion erstaunlich kurz und liegen im Bereich von unter 20 Minuten (▣ Abb. 10.4).

## 10.5 Spektrum der molekularen biologischen Nachweise

Betrachtet man die aktuellen Nachweise, so ist ein klarer Trend erkennbar, dass in neueren Systemen mehrere Erreger in nur einem Assay gekoppelt werden (»**Multiplex-PCR**«). Ein solch breiter Ansatz bietet den großen Vorteil, dass auch solche Patienten, deren Symptomatik einer Vielzahl von Erregern zugeordnet werden kann (z. B. ein Patient mit Husten oder ein Patient mit Durchfall), einer schnellen und empfindlichen ätiologischen Diagnose zugänglich sind. Weitere Ausführungen zum Thema sind in ► Kap. 20 zu finden). Das FilmArray-System der Firma BioMérieux ist ein Paradebeispiel für die »syndromische Diagnostik«. Die Panels ermöglichen den Nachweis einer Vielzahl von Pathogenen, die respiratorische und gastrointestinale Erkrankungen und Infektionen der Blutbahn hervorrufen sowie den simultanen Nachweis von Resistenzmarkern (▣ Tab. 10.1) [15, 16]. Die parallele Detektion führt allerdings zu einem erhöhten Interpretationsbedarf im Rahmen der Ergebnisauswertung, so dass sich diese Technologie vorerst für den Einsatz im Labor am besten eignet.

Bei den einfacheren Systemen, die eher für einen patientennahen Einsatz in Frage kommen, dominieren nach wie vor die PCR-Nachweise ein-

zelner Pathogene bzw. die in manchen mikrobiologischen Fragestellungen vorteilhafte Erfassung von zwei Erregervarianten in Form von Duplex-PCR-Ansätzen (z. B. Influenza A und B oder Enterokokken-Vancomycin-Resistenzgene vanA und vanB) (▣ Tab. 10.1). Ordnet man die aktuellen Assays den jeweiligen medizinischen Disziplinen zu, fällt auf, dass sich die Molekularbiologie zahlreiche neue Einsatzgebiete erschlossen hat. Während die Nachweise noch vor 5 Jahren fast ausschließlich im Bereich der sexuell übertragbaren Infektionen, der im Krankenhaus erworbenen Infektionen und der respiratorischen Infektionen lagen, sind neuerdings Erweiterungen der Infektionsdiagnostik (z. B. Nachweis von Hepatitis B und C, teilweise auch als quantitative und IVD-konforme Viruslast-Bestimmung) und vielversprechende neue Applikationsfelder außerhalb der Mikrobiologie hinzugekommen (▣ Tab. 10.1).

Von den Zuwächsen jenseits der Infektionsmedizin profitieren aktuell die Onkologie (BCR-ABL-Transkriptionsprodukt), die Gerinnungssprechstunde (Mutationsnachweis in Faktor II und Faktor V) und die Kardiologie (Zytochrom P450 Allel 2C19) (▣ Tab. 10.1). Bei dem letztgenannten Assay wurden erstmals die PCR und die Array-Hybridisierung (Microarray) für den patientennahen Einsatz miteinander kombiniert. Innerhalb von 60 Minuten lässt sich eine Zytochrom-P450-Allel-Variante (2C19) nachweisen, die das genetisch determinierte Ansprechen auf eine Clopidogrel-Therapie bestimmt [14]. Da der Test eine erhöhte Komplexität aufweist (in der US-amerikanischen Zulassung durch die FDA wurde der Test als »high complexity« kategorisiert), bleibt abzuwarten, ob sich dieser Test in der unmittelbar patientennahen Anwendung etablieren kann.

## 10.6 Fazit für die Infektiologie

Molekularbiologische Diagnostiksysteme für den patientennahen Einsatz decken mittlerweile eine Vielzahl von infektiologischen Fragestellungen ab. Die Bedienung der Geräte wird zusehends einfacher, die technischen Abläufe werden zuverlässiger und auch die Größe der Geräte reduziert sich immer mehr. Auch für nicht erregerebezogene



Fragestellungen ergeben sich für die molekularbiologischen Testungen die ersten patientennahen Anwendungen. Mit dem Einsatz von isothermen Amplifikationstechnologien oder durch Prozessoptimierungen der konventionellen PCR haben sich die Testlaufzeiten nochmals deutlich verkürzt, so dass mit der neuesten Generation von Tests die Ergebnisse schon nach 15–30 Minuten zur Verfügung stehen. Die Forschungs- und Entwicklungsabteilungen der diagnostischen Industrie haben sich diesem dynamischen Marktsegment nun intensiv gewidmet und zweifellos sind hier in absehbarer Zukunft zahlreiche neue Testkonzepte zu erwarten.

## Literatur

1. St John A, Price CP (2014) Existing and emerging technologies for point-of-care testing. *Clin Biochem Rev* 35:155–167
2. Niemz A, Ferguson TM, Boyle DS (2011) Point-of-care nucleic testing for infectious diseases. *Trends Biotechnol* 240–250
3. Craw P, Balachandran W (2012) Isothermal nucleic acid amplification technologies for point-of-care diagnostics: a critical review. *Lab Chip* 12:2469–2486
4. Stürenburg E, Junker R (2009) Patientennahe Diagnostik in der Mikrobiologie. *Dtsch Ärzteblatt* 106:48–54
5. Reischl U, Drostner C, Geißdörfer W, Göbel U, Hoffmann KS, Mauch H, Meyer T, Moter A, von Müller L, Panning M et al. (2011) MiQ 1: Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT), 3. Auflage, In: Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ) Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Urban & Fischer, München, pp 1–80
6. Nie S, Roth RB, Stiles J, Mikhлина A, Lu X, Tang YW, Babady NE (2014) Evaluation of Alere i Influenza A and B for rapid detection of influenza viruses A and B. *J Clin Microbiol* 52(9):3339–3344
7. Cohen DM, Russo ME, Jaggi P, Kline J, Gluckman W, Parekh A (2015) Multicenter clinical evaluation of the novel Alere i Strep A isothermal nucleic acid amplification Test. *J Clin Microbiol* 53(7):2258–2261
8. Scott L, Gous N, Carmona S, Stevens W (2015) Laboratory Evaluation of the Liat HIV Quant (IQuum) whole-blood and plasma HIV-1 viral load assays for Point-of-Care Testing in South Africa. *J Clin Microbiol* 53(5): 1616–1621
9. Chen L, Tian Y, Chen S, Liesenfeld O (2015) Performance of the Cobas Influenza A/B Assay for rapid PCR-based detection of influenza compared to Prodesse ProFlu+ and viral culture. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 5(4): 236–245
10. Pearce DM, Shenton DP, Holden J, Gaydos CA (2011) Evaluation of a novel electrochemical detection method for *Chlamydia trachomatis*: Application for Point-of-Care diagnostics. *IEEE Trans Biomed Eng* 58(3): 755–758
11. Pearce DM, Styles DN, Hardick JP, Gaydos CA (2013) A new rapid molecular point-of-care assay for *Trichomonas vaginalis*: preliminary performance data. *Sex Transm Infect* 89(6): 495–497
12. Goldenberg SD, Bisnauthsing KN, Patel A, Postulka A, Wyncoll D, Schiff R, French GL (2014) Point-of-Care Testing for *Clostridium Difficile* infection: A real-world feasibility study of a rapid molecular test in two hospital settings. *Infect Dis Ther* 3(2):295–306
13. Parcell BJ, Phillips G (2014) Use of Xpert MRSA PCR point-of-care testing beyond the laboratory. *J Hosp Infect* 87(2):119–121
14. Stimpfle F, Karathanos A, Droppa M, Metzger J, Rath D, Müller K, Tavlaki E, Schäffeler E, Winter S, Schwab M, Gawaz M, Geisler T (2014) Impact of point-of-care testing for CYP2C19 on platelet inhibition in patients with acute coronary syndrome and early dual antiplatelet therapy in the emergency setting. *Thromb Res* 134(1):105–110
15. Spina A, Kerr KG, Cormican M, Barbut F, Eigntler A, Zerva L, Tassios P, Popescu GA, Rafila A, Eerola E, Batista J, Maass M, Aschbacher R, Olsen KE, Allerberger F (2015) Spectrum of enteropathogens detected by the Film-Array GI Panel in a multicentre study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 21(8):719–728
16. Babady NE (2013) The FilmArray respiratory panel: an automated, broadly multiplexed molecular test for the rapid and accurate detection of respiratory pathogens. *Expert Rev Mol Diagn* 13(8):779–788