

Empfehlungen zur Implementierung von patientennahen Analysesystemen zum molekularen Nachweis von Infektionserregern im klinischen Umfeld

Rational clinical use of near-patient analytical systems for molecular detection of infectious agents

Peter B. Lippa, Norbert Gässler, Daniela Huzly, Matthias Nauck, Udo Reischl, Holger F. Rabenau, Christoph Schoerner, Heinz Zeichhardt für die beteiligten Fachgesellschaften

Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL), Sektion POCT:

Prof. Dr. med. Peter B. Lippa, Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Klinikum rechts der Isar der TU München

Prof. Dr. rer. nat. Norbert Gässler, Zentrum für Labordiagnostik, St. Bernward Krankenhaus, Hildesheim

Prof. Dr. med. Matthias Nauck, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsmedizin Greifswald

Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM):

Prof. Dr. rer. nat. Udo Reischl, Institut für Klinische Mikrobiologie und Hygiene, Universitätsklinikum Regensburg

Dr. med. Christoph Schoerner, Mikrobiologisches Institut - Klinische Mikrobiologie, Immunologie u. Hygiene, Universitätsklinikum Erlangen

Gesellschaft für Virologie e.V. (GfV); Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e. V. (DVV):

Prof. Dr. rer. med. Holger F. Rabenau, Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum Frankfurt/Main

Prof. Dr. rer. nat. Heinz Zeichhardt, IQVD GmbH – Institut für Qualitätssicherung in der Virusdiagnostik, Berlin

Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie (BÄMI e.V.):

Dr. med. Daniela Huzly, Institut für Virologie, Universitätsklinikum Freiburg

Zusammenfassung

Hintergrund: Unter den verfügbaren patientennahen laboratoriumsmedizinischen Verfahren der Sofortdiagnostik (Point-of-Care Testing = POCT) spielen Methoden zur Diagnostik von Infektionserregern (ID-POCT) eine spezielle Rolle.

Methode: Es erfolgte eine selektive Literatursuche in PubMed. Basierend auf der Literaturauswertung und eigenen Erfahrungen wurden die mit der Anwendung von molekularbiologischen Methoden zur diagnostischen Amplifikation der Erreger-DNA/RNA (Nucleic Acid Testing = NAT) bzw. der Signalamplifikation assoziierten Aspekte interdisziplinär diskutiert. Daraus entstanden die vorliegenden Empfehlungen zum patientennahen Einsatz von NAT-Verfahren.

Ergebnisse: Da die patientennah anwendbaren NAT-Verfahren (z.B. mittels Einwegkartuschen) derzeit zunehmend eingesetzt werden, werden Empfehlungen für deren Implementierung und sinnvollen klinischen Einsatz im Krankenhausbereich gegeben. Besonderer Wert wird dabei auf die Ergebnisqualität gelegt. Weiterhin werden einrichtungsinterne Best Practice-Regeln und Selektionskriterien vorgeschlagen, um die schnelle Diagnostik sicherzustellen. Ebenso wichtig sind eine medizinisch valide Ergebnisinterpretation sowie die Beachtung hygienischer Anforderungen. Diese Empfehlungen unterstreichen, dass NAT-POC-Teste stets mit Anbindung an eine (möglichst) multidisziplinäre, für POCT verantwortliche Einrichtung angeschafft und nur unter Berücksichtigung der Kenntnisse der Testspezifikationen, Risiken und Qualitätssicherung betrieben werden sollten.

Schlussfolgerung: Die Empfehlungen sollen insbesondere dazu dienen, die Patientensicherheit zu verbessern und ökonomisch fragwürdige Ausgaben zu vermeiden.

Abstract

Background: Among the available point-of-care testing (POCT) methods, tests for the diagnosis of infectious agents (ID-POCT) play a special role.

Methods: A selective literature search in PubMed was performed. Based on the literature review and own experience, the aspects associated with the application of molecular biological methods for the diagnostic amplification of pathogen DNA/RNA (Nucleic Acid Testing = NAT) or signal amplification were discussed on an interdisciplinary basis. This resulted in the present recommendations for the patient-oriented use of NAT methods.

Results: Since NAT methods (e.g., using disposable cartridges) that can be applied patient-near are currently being increasingly used, recommendations are given for their implementation and meaningful clinical use in the hospital setting. Particular emphasis is placed on the analytical quality of results. Furthermore, internal best-practice-rules and selection criteria are proposed to ensure rapid diagnosis. Equally important are medically valid interpretation of results and compliance with hygiene requirements. These recommendations emphasize that NAT-POC tests should always be purchased with a connection to a (preferably) multidisciplinary institution responsible for POCT and should only be operated under consideration of knowledge of test specifications, risks and quality assurance.

Conclusion: The recommendations are especially intended to improve patient safety and to avoid economically questionable expenditures.

Einleitung

Die Aktualität der vorliegenden Empfehlungen lässt sich aus den Ereignissen der SARS-CoV-2-Pandemie des Jahres 2020 ablesen: Spezifische RNA-Amplifikationsprotokolle zum Nachweis des neuartigen Coronavirus SARS-CoV-2 gibt es seit Januar 2020, zunächst als Laboratory Developed Test (LTD), mittlerweile auch zahlreich als CE-zertifizierte Testsysteme. Für die patientennahe Labordiagnostik sind seit April 2020 auch kompakte, automatisierte Nucleic Acid Testing (NAT)-Systeme verfügbar. Die Reaktionsabläufe erfolgen als isothermale Prozesse oder nach dem PCR-Prinzip und inkludieren die Extraktion, die reverse Transkription der viralen RNA sowie die Amplifikation und Detektion (1).

Die Sektion POCT der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL) hat daher in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM), der Gesellschaft für Virologie e.V. (GfV), der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e. V. (DVV) und dem Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie, Virologie und Infektionsepidemiologie (BÄMI e.V.) die nachfolgenden Empfehlungen zur Implementierung von patientennahen Analysesystemen zum molekularen Nachweis von Infektionserregern im klinischen Umfeld erarbeitet.

Definition der patientennahen Sofortdiagnostik

Laut Rili-BÄK (2) handelt es sich bei der patientennahen Sofortdiagnostik (Point-of-Care Testing, POCT) um laboratoriumsmedizinische Untersuchungen, die ohne Probenvorbereitung (Volumendosierungen sind erlaubt) unmittelbar als Einzelprobenmessungen durchgeführt werden. Ein wesentliches zusätzliches Kriterium ist dabei die unmittelbare Ableitung weiterer diagnostischer oder therapeutischer Konsequenzen aus der durchgeführten Untersuchung. Bei der Verwendung von Unit-use-Reagenzien, die nur für eine Einzelbestimmung vorgesehen und mit einer Untersuchung verbraucht sind, sieht die Rili-BÄK vereinfachte Regeln für die Qualitätssicherung vor.

Als weitere Merkmale gelten folgende Eigenschaften (Tabelle 1):

| Tabelle 1: Weitere Charakteristika von POCT |
|--|
| 1. Die Analysen erfolgen direkt am Patienten(bett) oder in unmittelbarer Nähe zum Patienten. |
| 2. Die meisten Nutzer der POCT-Messgeräte haben keine eingehende medizinisch-technische Qualifikation. Auch für sie ist eine Medizinproduktegesetz (MPG)- und Rili-BÄK-gemäße Schulung als Anwender vorgeschrieben. |
| 3. Man spricht auch dann von patientennaher Sofortdiagnostik (POCT), wenn nicht alle der hier gelisteten Kriterien erfüllt sind, der typische Charakter eines solchen Tests (besonders in Hinsicht auf die Rili-BÄK-Definition) jedoch gewahrt ist. Bei Benutzung von geschlossenen Testsystemen (z. B. Kartuschen-Systeme) für den molekularen Genomnachweis von Erreger-DNA/RNA ist ein spezielles Kapitel in B3 der Rili-BÄK von 2019 (2) zu berücksichtigen (Einzelheiten unter Abschnitt „Qualitätssicherung“). |

Unter den derzeit verfügbaren patientennahen laboratoriumsmedizinischen Verfahren der Sofortdiagnostik spielen Methoden zur Diagnostik von Infektionserregern (Infectious Disease

Point-of-Care Testing = ID-POCT) eine besondere Rolle. Während die meisten Systeme auf dem immunchromatographischen Nachweis eines spezifischen mikrobiellen Antigens beruhen (Lateral Flow ImmunoAssay = LFIA), gibt es seit einiger Zeit vielfältige molekularbiologische Methoden zur diagnostischen Amplifikation der Erreger-DNA/RNA. Da diese patientennahen NAT-Verfahren derzeit vor allem im Krankenhausbereich eingesetzt werden, sollen nur hierfür Empfehlungen zur sinnvollen Implementierung und zum Einsatz dieser Verfahren gegeben werden, zumal es für die patientennah durchgeführten NAT aktuell nur wenige Regularien für ein umfassendes Qualitätsmanagement gibt.

Klinischer Einsatz der patientennahen NAT-Verfahren

Patientennahe Sofortdiagnostik incl. der ID-POCT-Methoden wird fast in allen deutschen Krankenhäusern durchgeführt. Bisher war in der Rili-BÄK (2) in Bezug auf die Qualitätssicherung der patientennahen Sofort-Diagnostik eine historisch gewachsene besondere Verantwortung dem Zentrallabor zugeschrieben. Durch die Entwicklungen speziell in der molekularen Infektionsdiagnostik ist die Qualitätssicherung jedoch weiter zu entwickeln. Da die laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen in vielen Häusern sehr unterschiedlich geregelt sind, kommen die Autoren zu den folgenden Empfehlungen, die in [Tabelle 2](#) aufgeführt werden.

| Tabelle 2 Empfehlungen zum sinnvollen Einsatz der patientennahen NAT-Verfahren | |
|--|---|
| 1. | Die von der Rili-BÄK geforderte Qualitätssicherung wird am besten mittels einer multi-disziplinär besetzten POCT-verantwortlichen Einrichtung sichergestellt, die durch eine krankenhauseigene POCT-Kommission in ihrer Zusammensetzung definiert wird. Diese POCT-verantwortliche Einrichtung sollte für alle dezentralen POCT-Analysen einschließlich der patientennah durchgeführten NAT-Methoden verantwortlich sein. |
| 2. | Die Krankenhäuser sind bzgl. des Vorhandenseins eines eigenen Medizinischen Labors sehr heterogen aufgestellt: Das Spektrum reicht von Häusern ohne eigenes Labor, über Einrichtungen mit einem Medizinischen Labor, in dem laboratoriumsmedizinische einschließlich mikrobiologischer und virologischer Analysen unter einem Dach durchgeführt werden, bis zu universitären Klinika, in denen neben einem Institut für Laboratoriumsmedizin auch eigene Institute für Medizinische Mikrobiologie und Virologie in der Krankenversorgung vertreten sind. Die POCT-verantwortliche Einrichtung sollte daher im Falle von NAT-POCT ein Kompetenzteam etablieren, welches aus der Leitung eines Medizinischen Labors im Verbund (oder in Personalunion) zusammen mit Personen mit Expertise auf dem Gebiet der Medizinischen Mikrobiologie/Virologie (z. B. aus einem internen oder externen mikrobiologischen und/oder virologischen Institut) besteht. |
| 3. | In Häusern ohne eigenes Medizinisches Labor kann auch eine POCT-Kommission einen geeigneten, u. U. auch externen Koordinator, vorschlagen, der dann von der Krankenhausleitung verantwortlich für diese Tätigkeit benannt wird. |
| 4. | Eine weitere, mögliche Organisationsvariante zur Qualitätssicherung ist die NAT-POCT-Betreuung in z. B. einer Notaufnahme in der Alleinverantwortung eines mikrobiologisch/virologischen Labors. Eine Voraussetzung hierfür ist u.a., dass ein bidirektionales LIS/KIS-Netzwerk vorhanden ist oder aufgebaut werden kann. |

Mit diesen, durch die Fachgesellschaften gemeinsam formulierten Empfehlungen soll erreicht werden, dass patientennah durchgeführte NAT-Methoden nur mit Anbindung an die mit umfassenden Verantwortlichkeiten ausgestattete **multidisziplinäre, die POCT-Prozesse verantwortende Einrichtung** mit einem funktionierenden LIS/KIS-Netzwerk angeschafft und mit eingehenden Kenntnissen der Testspezifikationen, Risiken und Qualitätssicherung betrieben werden. Zudem soll erreicht werden, dass die von der aktuellen Rili-BÄK eingeführte risikobasierte Qualitätssicherung im Sinne der Patientensicherheit flächendeckend durchgeführt wird.

Die Koordinationsstelle definiert die Testspezifikationen, betreut die Geräteperformance und Wartung, und stellt die Analysequalität sicher. Zudem überwacht sie die arbeitsplatzbezogenen Hygieneanforderungen und erstellt aus dem über das LIS/KIS-Netzwerk übermittelten Bericht den medizinisch-validierten Befund. Für die Befunderstellung werden zusätzliche Geräte und Testinformationen berücksichtigt (z.B. Cp-/Cq-/Ct-Werte, Kurvenverlauf). Vor Ort können aus den NAT-Analyseergebnissen sofortige Therapieentscheidungen getroffen werden. Weiterhin können daraus auch ggf. sofortige krankenhaushygienische Maßnahmen abgeleitet werden, z. B. Isolationsmaßnahmen. Zusätzlich kommt die Koordinationsstelle der Meldepflicht nach, z.B. entsprechend § 7 des Infektionsschutzgesetzes (Labormeldepflicht). Eine weitere wichtige Aufgabe ist die kontinuierliche Schulung (besonders in Hinblick auf die Präanalytik) und Zertifizierung des klinischen Personals, das in die patientennahe Laboranalysen involviert ist.

Für die Durchführung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen sind in Deutschland die Vorgaben der Rili-BÄK verbindlich und haben gesetzesähnlichen Charakter. Bei einer Akkreditierung fällt die Qualitätssicherung dezentraler POCT-Systeme unter die Vorgaben der DIN EN ISO 22870:2017-04. Dagegen kann bei einer ID-POCT-Betreuung in Alleinverantwortung eines mikrobiologischen/virologischen Labors die DIN EN ISO 15189:2014 zum Einsatz kommen.

Die in der Vergangenheit beobachtete eingeschränkte analytische Sensitivität von LFIA zum Nachweis von bakteriellen, viralen, mykologischen oder parasitären Antigenen (3), führte in den letzten Jahren zur Entwicklung hochsensitiver molekulargenetischer Tests. Die POCT-NAT-Verfahren wurden zudem entwickelt, um eine Diagnosestellung im Vergleich zu den klassischen mikrobiologischen/virologischen Analyseverfahren zu beschleunigen, um dadurch die Therapiemöglichkeiten zu verbessern und den schnelleren gezielten Einsatz von Antiinfektiva zu ermöglichen. Es wurden PCR-Kartuschengeräte entwickelt, die eine schnelle, kontaminationsfreie und von entsprechend geschultem Personal durchführbare Einzeltest-Analytik erlauben. Dazu werden gebrauchsfertige, mit Reagenzien – teilweise in Blister – vorgefüllte Kartuschen eingesetzt, in denen sämtliche PCR-Prozessschritte (Probenaufschluss mit Nukleinsäurefreisetzung, Amplifikation und Detektion) vollmechanisiert ablaufen. Auf dem IVD-Markt sind zahlreiche derartige Kartuschen-NAT-Geräte, inklusive Multiplex PCR-Systemen, verfügbar.

Im Gegensatz zu den o.g. immunologischen Testsystemen müssen bei der Mehrzahl der NAT die gewonnenen Untersuchungsmaterialien (z. B. Abstrichtupfer mit Flüssigmedium) entweder direkt oder nach Mischung mit einer Elutionslösung in eine Einwegkartusche eingebracht oder gefüllt werden. Diese wird dann in das NAT-System eingesetzt, welches die weiterführende Probenvorbereitung prozessiert. Dieser **präanalytische Schritt** ist entscheidend, da hier prinzipiell Fehler entstehen können. Die Art und Menge des Untersuchungsmaterials, aus dem die Analyse erfolgt, muss gemäß den Vorgaben des Herstellers ausgewählt werden. Auch die Abstrich- und Transportsysteme (z. B. Abstrichtupfer und Flüssigmedien) müssen

für das verwendete Gerät kompatibel sein. Darüber hinaus ist darauf hinzuweisen, dass ein NAT-Erregernachweis nur aus solchen Probenmaterialien Sinn macht, die den gesuchten Erreger mit hoher Wahrscheinlichkeit in nachweisbarer Menge enthalten und entsprechend validiert sind. Auf die korrekte Probennahmetechnik und den richtige Entnahmeort (z. B. tiefer nasopharyngealer Abstrich) ist ggf. besonders zu achten, um insuffiziente Proben zu vermeiden, die zu fehlerhaften Analyseergebnissen führen können. Hier bedarf es einer besonders intensiven Schulung des die Probe entnehmenden und des POCT-NAT-nutzenden Personals, um die sonst in der Mikrobiologie/Virologie durchgeführte präanalytische Eingangskontrolle des Probenmaterials auch bei der patientennahen Sofortdiagnostik sicherzustellen.

In einigen neueren Systemen erfolgt der Nachweis mehrerer Erreger parallel in nur einem Assaylauf (sog. Multiplex-PCR). Ein derartiger Ansatz bietet den Vorteil, dass bei Vorliegen einer Symptomatik, die mehreren Erregern zugeordnet werden kann, ein schneller und empfindlicher Erreger-Nachweis möglich ist. Die Panels verschiedener Geräte für eine "syndromische Diagnostik" ermöglichen den Nachweis einer Vielzahl von Pathogenen. Die Verfahren sollten nur nach strenger Indikationsstellung eingesetzt werden. Abgesehen von den Kosten erfordert der Multiplex-Ansatz oftmals einen erhöhten Interpretationsbedarf im Rahmen der Ergebnisauswertung und Kenntnisse der Grenzen des Nachweises der jeweiligen Erregerzusammenstellung.

Für POCT-NAT-Methoden, die mit geschlossenen (z. B. Kartuschen-)Systemen arbeiten, ist die Qualitätssicherung der Ergebnisse ein wichtiger Aspekt, der in Deutschland durch die Neufassung der Rili-BÄK 2019 Rechnung getragen wird (2). Im Detail, so auch ausdrücklich in der Rili-BÄK definiert, sind das Kartuschen, die bereits alle erforderlichen Reagenzien enthalten und bei denen nach manueller oder automatisierter Zugabe des Patientenmaterials keinerlei weitere Reagenzien oder Patientenmaterial benötigt werden bzw. in die geschlossene Kartusche eindringen können. Dadurch ist die Kontaminationsgefahr deutlich minimiert. Auch ein Öffnen des Systems ist nicht möglich, so dass eine Freisetzung von Nukleinsäureamplifikaten ausgeschlossen ist.

Implementierung von patientennahen NAT-Verfahren im Krankenhausumfeld

Die unbestreitbaren Vorteile des Einsatzes von POCT im Krankenhaus sind der Wegfall eines längeren Probentransports und die rasche Verfügbarkeit der Resultate mit ggf. unmittelbarer therapeutischer Konsequenz für den Patienten. Studien belegen (4), dass die Aufenthaltsdauer von Patienten in Notaufnahmen durch POCT reduziert wird. Dieser Zeitgewinn geht jedoch nicht immer mit medizinisch belegbaren Vorteilen einher (5). Eine unüberlegte und vorschnelle Einführung derartiger Teste, insbesondere von NAT, kann daher zu diagnostischen Unsicherheiten und der fehlenden Möglichkeit von Folgeuntersuchungen aus demselben Probenmaterial führen. Dennoch wird der klinische Einsatz von derartigen Analyse-systemen im Krankenhausbereich zunehmend gefordert. Zum Beispiel wird die NAT-Testung auf Influenza A, B und RSV inzwischen bereits in einigen großen Notaufnahmen durchgeführt. Als vorteilhaft haben sich, neben der raschen Ergebnisverfügbarkeit, eine daraus resultierende reduzierte Bettensperrung erwiesen. Der patientennahe Einsatz von NAT zum

Nachweis von Influenza-Viren kann so auch kosteneffektiv sein (6). Ähnliches gilt für den NAT-basierten Nachweis von SARS-CoV-2-RNA.

Qualitätssicherung – Neue Rili-BÄK Vorgaben für NAT-Verfahren mit geschlossenen Testsystemen (z. B. Einwegkartuschen)

Die Neufassung der Rili-BÄK vom Dezember 2019 (2) hat die Maßnahmen zur Durchführung der Qualitätssicherung bei geschlossenen, vollmechanisierten molekulargenetischen Testsystemen (z.B. Kartuschen-Systeme) zum Nachweis erregerspezifischer DNA/RNA im Kapitel 2.1.2.3 definiert. Zudem ist die interne Qualitätssicherung bei molekularbiologischen Verfahren in den Tabellen B 3-1 und B 3-1a aufgeführt. Auszugsweise soll aus diesem Kapitel Punkt 5), der besonders für patientennahe NAT-Verfahren relevant ist, dargestellt werden:

Zitat: (5) *Bei geschlossenen Testsystemen (z. B. Kartuschen-Systemen) zum qualitativen oder quantitativen Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäure kann auf das Mitführen zusätzlicher Kontrollproben bei jeder Testdurchführung verzichtet werden, wenn ausreichende Verfahrenskontrollen integriert sind, welche die Funktionalität der Reagenzien sicherstellen, einschließlich Extraktion, Aufreinigung, Amplifikation und Inhibition.*

Bei fehlender Herstellervorgabe oder wenn vom Hersteller keine positive und/oder keine negative Kontrollprobe für erforderlich deklariert wird, muss das Laboratorium, mittels einer für das jeweilige Verfahren angepassten Vorgabe, die Frequenz positiver und/oder negativer Kontrollproben begründet festlegen (risikobasierte Qualitätssicherung). Frequenz und Ergebnis dieser Kontrollprobenmessungen sind zu dokumentieren.

Einrichtungsinterne Best Practice-Regeln

Bei der Implementierung von patientennaher NAT in einem Krankenhaus müssen vor Ort verschiedene vorbereitende Maßnahmen von den betroffenen klinischen Stationen (z. B. Notaufnahme) in enger Kooperation mit dem mikrobiologischen/virologischen Kompetenzteam in der für POCT verantwortlichen Einrichtung (oft auch als POCT-Koordinationsstelle bezeichnet, siehe dazu auch „Klinischer Einsatz“) ergriffen werden. Die wichtigsten Aspekte dabei sind die Auswahl eines geeigneten Systems, die fundierte Einarbeitung des primär klinisch tätigen Personals in die richtige Indikationsstellung, die präanalytischen Aspekte und Durchführung der laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen, die angemessene IT-Anbindung an das LIS, die klinische Validierung der erhaltenen Resultate, die korrekte Ergebnisinterpretation, eine umfassende Kosten-/Nutzen-Analyse, eine adäquate therapeutische Beratung sowie die Sicherstellung aller qualitätssichernden Maßnahmen (interne und externe Qualitätskontrollen) und ggf. der Algorithmen zur Meldepflicht nach Infektionsschutzgesetz (IfSG) bzw. der innerbetrieblichen Meldung an die zuständige Krankenhaushygiene. Besonderes Augenmerk sollte der korrekten Anwendung der patientennahen NAT-Methoden gelten. Durch eine zu großzügige Indikationsstellung werden die Tests häufig falsch eingesetzt und damit unnötige Kosten verursacht. Andererseits können gezielte Indikationsstellungen zu verbesserten Prozessabläufen führen, die mit entsprechenden Kosteneinsparungen einhergehen können.

Selektionskriterien

Die Auswahl von NAT-Systemen sollte an die Situation im jeweiligen klinischen Arbeitsbereich angepasst werden. Diese Bewertung muss von Personen mit mikrobiologischer/viro-

logischer Expertise zusammen mit der die POCT-Prozesse verantwortenden Einrichtung (siehe dazu Abschnitt „Klinischer Einsatz“) geregelt werden. Neben der analytischen Qualität (7) müssen auch die Voraussetzungen für eine geeignete Präanalytik hinterfragt werden. In [Tabelle 3](#) ist eine Liste potenzieller Auswahlkriterien, die vor der Durchführung der patientennahen NAT-Methode berücksichtigt und überprüft werden sollten (modifiziert nach van der Eijk *et al.* (8)), dargestellt.

| Tabelle 3 Auswahlkriterien für den Einsatz von NAT-ID-POCT |
|---|
| <u><i>NAT-Technologie: Ausmaß, in dem die Technologie</i></u> |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>medizinisch sinnvoll ist,</i> • <i>hinsichtlich Probenahme, Spezifität, Sensitivität, Reproduzierbarkeit, Kosten pro Test usw. durch eine eigene Evaluation bewertet werden muss,</i> • <i>für das Arbeitsumfeld in den einzelnen Krankenhausbereichen geeignet ist,</i> • <i>sich in die bestehende IT-Infrastruktur und Datensicherheit integrieren lässt.</i> |
| <u><i>Implementierung: Überprüfung, ob</i></u> |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>der Test für die Verwendung durch (inter)nationale Regulierungsbehörden zugelassen ist und den geltenden Gesetzen und Vorschriften entspricht,</i> • <i>sich der neue Service in bestehende Workflows integrieren lässt,</i> • <i>die entsprechenden Voraussetzungen bezüglich der multidisziplinär besetzten POCT-verantwortlichen Einrichtung im Krankenhaus verfügbar sind,</i> • <i>die mit der Umsetzung ggf. verbundenen Risiken (z. B. Anwendung durch nicht-geschultes Personal) kontrolliert werden können.</i> |
| <u><i>Nutzung und Alternativen: Überprüfung bzw. Abschätzung</i></u> |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>des Grades der Akzeptanz durch die Nutzer für diese Art der Diagnostik,</i> • <i>der Anzahl der POCT-Nutzer, die diese Analytik durchführen werden,</i> • <i>von Alternativen zum neuen NAT-Service.</i> |
| <u><i>Betrieb: Klärung bzw. Berücksichtigung der</i></u> |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>Möglichkeit der Verknüpfung des NAT mit der bestehenden POCT-Middleware und dem LIS/KIS,</i> • <i>Einfachheit/geringe Fehleranfälligkeit im Umgang mit der neuen NAT-Technologie,</i> • <i>Durchführung von Schulungen für Ärzte, Pflegepersonal, Techniker usw. und Planung einer regelmäßigen Erfolgskontrolle,</i> • <i>leichten Verfügbarkeit der für die Testung benötigten Verbrauchsmaterialien,</i> • <i>einfachen Durchführung von Reparaturen/Instandsetzungen bei technischen Problemen des NAT-Systems durch das Personal der medizinischen Einrichtung,</i> • <i>strukturellen und vertraglichen Gegebenheiten innerhalb der Einrichtung (u.a. Weisungsbefugnis gegenüber dem Personal während der Testdurchführung),</i> • <i>Verantwortlichkeiten bezüglich der Sicherstellung/Einhaltung von Wartungsmaßnahmen sowie der Nachbestellung von erforderlichen Testkits.</i> |
| <u><i>Strategie: Klärung des Beitrags des neuen NAT-Services</i></u> |
| <ul style="list-style-type: none"> • <i>an der Ergebnisqualität,</i> • <i>an der Effizienz im Diagnose-/Therapie-Prozess,</i> • <i>an der Effizienz im Pflegeprozess.</i> |

Wichtig ist die eigene Evaluierung der Testverfahren unter den Gegebenheiten der jeweiligen Einrichtung. Insbesondere das Patientengut der Einrichtung (Anteil an in der Notaufnahme primär versorgten Patienten, Anteil von pädiatrischen oder geriatrischen Patienten, Verteilung chirurgischer und nicht-chirurgischer Fälle, Anteil an Intensivpatienten etc.) muss dabei berücksichtigt werden. Die Assay-Daten bezüglich Spezifität, Sensitivität, positiver und negativer prädiktiver Werte sind eingehend zu bewerten, da es für verschiedene Erregernachweise Veröffentlichungen über falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse bei einzelnen, kommerziell verfügbaren POCT-Systemen gibt (9, 10).

Präanalytische Vorgaben

Eine korrekte Präanalytik ist wie bei jedem anderen laboratoriumsmedizinischen inklusive der mikrobiologischen Verfahren von entscheidender Bedeutung für die Diagnostik. In [Tabelle 4](#) werden vier wichtige Aspekte hierzu erläutert.

| Tabelle 4 Präanalytische Aspekte für POCT-NAT-Verfahren |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> Die korrekte Abstrich-/Probe-Entnahmetechnik vom Patienten ist von entscheidender Bedeutung für die Diagnostik. Dies bedeutet, dass die Art und Menge des Untersuchungsmaterials, aus dem die Analyse erfolgt, vorgabenkonform ausgewählt und die Probe direkt, d. h. ohne Probenvorbereitung, eingesetzt wird. Dies ist bei den NAT-Systemen mit integrierter Probenvorbereitung zumeist gegeben; den Vorgaben des Herstellers ist dabei strikt zu folgen. |
| <ul style="list-style-type: none"> Aus praktischer Erfahrung muss darauf hingewiesen werden, dass ein NAT-gestützter Erregerdirektnachweis nur aus solchen Abstrich-/Probe-Materialien sinnvoll ist, die das infektiöse Agens mit hoher Wahrscheinlichkeit in nachweisbarer Menge enthalten. |
| <ul style="list-style-type: none"> Bei der Präanalytik ist zudem besonders auf das für das jeweilige NAT-Gerät geeignete Abstrich- und Transportsystem zu achten (z.B. Nylon-Flockfaser-Abstrichtupfer mit Amies-Medium). Die Herstellervorgaben zur Benutzung eines Abstrichsystems sind unbedingt einzuhalten. |
| <ul style="list-style-type: none"> Vor allem bei klinischem Verdacht auf hochinfektiöse bzw. hochkontagiöse Erreger ist beim offenen Umgang mit Probenmaterial außerhalb des mikrobiologisch-virologischen Laboratoriums neben der Vermeidung von Kreuzkontaminationen auch der Aspekt des Personenschutzes zu berücksichtigen (siehe auch Abschnitt „Hygienische Anforderungen“). |

Ergebnisinterpretation

Die Ergebnisausgabe und die Interpretation sollte klar und eindeutig, d. h. ohne weiteren Interpretationsbedarf, sein, z.B. "Krankheitserreger nachgewiesen/nicht nachgewiesen" oder „Mutation vorhanden/nicht vorhanden". In Abhängigkeit vom gewählten POCT-Konzept, werden – nach Überspielung der POCT-NAT Ergebnisse in das LIS – diese mit der notwendigen mikrobiologischen/virologischen Kompetenz für den schriftlichen Endbericht verifiziert und ggf. weiterführend interpretiert. Damit wird erreicht, dass in Abhängigkeit von den Ergebnissen patientennah sofort Entscheidungen getroffen werden können, der Befund jedoch von kompetenter Seite erstellt wird und im Bedarfsfall auch eine IfSG-Meldung an das Gesundheitsamt erfolgt. Im Dokument „MM03: Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases“ des Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) wird auf diese Aspekte detailliert eingegangen (11) ([Tabelle 5](#)).

| Tabelle 5 Ergebnisausgabe und Interpretation nach CLSI-Dokument (11) | |
|--|---|
| Ergebnismitteilung | <i>Die Ergebnisse von NAT-Methoden sollten dem Kliniker primär als "positiv", "negativ", "zweifelhaft" oder "nicht interpretierbar" – ggf. mit weiteren Interpretationen – übermittelt werden.</i> |
| Kritische Ergebnisse | <i>Für Tests, die die Therapie-Entscheidungen erheblich beeinflussen, sollten kritische Ergebnisse definiert werden. Es sollte sichergestellt werden, dass der behandelnde Arzt unverzüglich informiert wird. Die Nutzer der patientennahen NAT-Verfahren sollten mit der Bedeutung von kritischen Ergebnissen mit den von ihnen durchgeführten Verfahren vertraut sein.</i> |
| Mitteilung klinisch signifikanter Testbeschränkungen | <i>Diese sollte im Bericht kurzgehalten werden, um nicht vom wesentlichen Befund abzulenken. Beispiele sind Kreuzreaktionen, systematische Fehler bedingt durch Genomveränderungen des Erregers und das Vorhandensein von interferierenden Substanzen. Zum Teil werden diese Einschränkungen bereits in der Packungsbeilage des Test-Herstellers angegeben. Der Einsatz von laborintern entwickelten Tests, die Verwendung von NAT-Methoden für andersartiges Probenmaterial oder für vorher nicht definierte Zwecke (intended use) ist nur in Ausnahmefällen zulässig.</i> |

Hygienische Anforderungen

Auch Hygienefragen müssen beachtet werden: Im Rahmen einer Gefährdungsbeurteilung gemäß § 4 BioStoffV bzw. § 3 ArbStättV muss der Anwender von ID-POCT vor der Arbeit mit den potentiell infektiösen (Abstrich-)Materialien geeignete Schutzmaßnahmen gemäß dem jeweils gültigen Hygieneplan ergreifen und ggf. eine Betriebsanweisung erstellen. Insbesondere der Händehygiene, der persönlichen Schutzausrüstung, der desinfizierenden Oberflächenreinigung sowie der Abfall-Behandlung muss entsprechende Aufmerksamkeit geschenkt und die entsprechenden Regularien (z.B. TRBA 100 und 250, sowie die Vorgaben des Ausschusses für Biologische Arbeitsstoffe [ABAS]) beachtet werden (12, 13).

Oberflächen, auf denen NAT durchgeführt wird, können mit Krankheitserregern oder selbst nach vorschriftsmäßiger Desinfektion/Dekontamination mit deren Nukleinsäuren kontaminiert sein. Daher sind aus Gründen des Infektionsschutzes und zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen die in Tabelle 6 aufgeführten Grundregeln zu beachten.

| Tabelle 6 Hygienische Anforderungen – Grundregeln |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Räumliche Trennung von Arbeitsplätzen mit Belastung mit infektiösem Material von solchen ohne entsprechende Belastung |
| <ul style="list-style-type: none"> • Regelmäßige Reinigung und/oder Desinfektion der Arbeitsflächen (möglichst nach jeder Testung und zwingend unmittelbar nach jeder sichtbaren Kontamination) mit geeigneten Desinfektionsmitteln |
| <ul style="list-style-type: none"> • Essen, Trinken, Rauchen und Aufbewahrung von Lebensmitteln am ID-POCT-Arbeitsplatz sind nicht erlaubt. |
| <ul style="list-style-type: none"> • Beim Umgang mit infektiösem Material ist das Berühren von Gesicht und Arbeitsgeräten (Telefon, Computertastaturen, Schreibutensilien usw.) zu vermeiden. Regelmäßige Händedesinfektion ist obligat. |

Bei der Durchführung von patientennahem NAT zum Erregernachweis können bei verschiedenen Arbeitsschritten Aerosole entstehen, z. B. beim Öffnen deckelverschlossener Probenbehälter, Mischen von Proben, Pipettieren und Entleeren von Spritzen und Probenbehältern. Daher ist in Abhängigkeit von den unterschiedlichen NAT-Verfahren eine mikrobiologische Sicherheitswerkbank vorgeschrieben. Sollte dies räumlich nicht umsetzbar sein, müssen – u.a. abhängig vom nachzuweisenden Erreger – beim Pipettieren der Probe in die Testkartusche eine persönliche Schutzausrüstung entsprechend TRBA 100 getragen werden (z.B. Schutzbrille, Schutzkittel, Mund-Nasen-Schutz/FFP-Maske); diese ist hinterher sachgerecht zu entsorgen. Ggf. müssen weitere Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden (z.B. bei der Testung auf SARS-CoV-2 (13)). Die Umgebung des Testgerätes ist regelmäßig mit geeignetem Flächendesinfektionsmittel zu dekontaminieren.

Weitere Konsequenzen

Weitere klinische und molekularbiologische Konsequenzen werden, in [Tabelle 7](#) zusammengefasst, beschrieben.

| Tabelle 7 Klinisches Management und weitere Aufgaben der POCT-verantwortlichen Einrichtung |
|---|
| Das klinische Management der NAT-Ergebnisse wird durch eine intensive Zusammenarbeit zwischen dem Kliniker und der POCT-verantwortlichen Einrichtung unterstützt. |
| 1. Bei entsprechend definierten Erregern sollten positive Ergebnisse ggf. mit anderen mikrobiologischen Methoden überprüft bzw. bestätigt werden (soweit verfügbar). |
| 2. Die klinische Interpretation komplexer Untersuchungsergebnisse, wie z. B. einer Multiplex-PCR, muss in der Verantwortung des Klinikers und eines mikrobiologisch/virologischen Experten liegen und von ihnen im Einzelfall nachbeurteilt werden. |
| 3. Die aus dem NAT-Ergebnis resultierenden Therapieoptionen werden nach Möglichkeit mit dem behandelnden Arzt besprochen. |
| 4. Ebenso sind die sich ggf. ergebenden krankenhaushygienischen Konsequenzen (z. B. Isolierung, besondere Desinfektionsmaßnahmen) durch den Kliniker, in Zusammenarbeit mit dem verantwortlichen Krankenhaushygieniker, zu veranlassen. |
| Weitere Aufgaben im Rahmen der molekulargenetischen Sofortdiagnostik: |
| 1. Die für POCT verantwortliche Einrichtung veranlasst die vorgegebene Durchführung externer Ringversuchsmessungen im Krankenhaus und übermittelt die Ergebnisse an eine der von der Bundesärztekammer zugelassenen Ringversuchsorganisation. Weiterhin überwacht die Stelle den Ergebnisrücklauf der externen Qualitätssicherung und veranlasst bei Ergebnisabweichungen die notwendigen Korrekturmaßnahmen. |
| 2. Die Einrichtung sorgt dafür, dass alle Daten aus den patientennah durchgeführten NAT-Messungen im LIS/KIS gespeichert werden, um weitere statistische und epidemiologische Analysen zu ermöglichen. |
| 3. Zudem bietet das Kompetenzteam dem behandelnden Arzt folgende Konsiliardienste an: |
| a. bei Nachweis eines gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG) meldepflichtigen Erregers Meldung an das Gesundheitsamt |
| b. Informationen zur epidemiologischen Erregersituation |
| c. Zusammenarbeit mit dem Antibiotic-Stewardship-Team. |

Beispiele für eine gelungene Umsetzung von ID-POCT sind die Implementation von schnellen Influenza- oder SARS-CoV-2-NAT in Notaufnahmen von Universitätsklinika. Hier hat die

Zusammenarbeit mit den mikrobiologischen/virologischen Instituten dazu geführt, dass die Testungen durch die Vernetzung der POCT-Geräte qualitätskontrolliert werden, bei technischen Problemen schnell Hilfe zur Verfügung steht und in ausgewählten Fällen Bestätigungs- und Vergleichstestungen in den virologischen Instituten veranlasst werden (14).

Literatur

1. Kohmer N, Rabenau HF, Ciesek S. SARS-CoV-2: Der richtige Nachweis. Dtsch Arztebl 2020; 117(17): A-866 / B-729
2. Bundesärztekammer (2019) Neufassung der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – Rili-BÄK. Dtsch Arztebl 2019; 116(51-52): A-2422/B-1990/C-1930.
3. Kozel TR, Burnham-Marusch AR. Point-of-care testing for infectious diseases: Past, present, and future. J Clin Microbiol. 2017 Aug;55(8):2313-2320.
4. Jang JY, Shin SD, Lee EJ, Park CB, Song KJ, Singer AJ (2013) Use of a comprehensive metabolic panel point-of-care test to reduce length of stay in the emergency department: a randomized controlled trial. Annals of Emergency Medicine 61(2):145–151
5. St John A, Price CP (2013) Economic evidence and point-of-care testing. The Clinical Biochemist Reviews 34(2):61
6. You JHS, Tam L-p, Lee NLS (2017) Cost- effectiveness of molecular point-of-care testing for influenza viruses in elderly patients at ambulatory care setting. PLoS ONE 12(7): e0182091.
7. U. Reischl, C. Drosten, W. Geißdörfer, U. Göbel, K.S. Hoffmann, H. Mauch, T. Meyer, A. Moter, L. von Müller, M. Panning, H.F. Rabenau, I. Reiter-Owona, A. Roth and M. Weitz (2011) MiQ 1: Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT), 3. Auflage, In: Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ) Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik (A. Podbielski, M. Herrmann, E. Kniehl, H. Mauch, and H. Rüssmann , eds.), ISBN-13: 978-3-437-41535-7, Urban & Fischer, München, pp. 1-80.
8. van der Eijk AA, Tintu AN, Hays JP (2017) Pre-implementation guidelines for infectious disease point-of-care testing in medical institutions. Future Microbiol;12:51-58.
9. Hahn A, Podbielski A, Meyer T, Zautner AE, Loderstädt U, Schwarz NG, Krüger A, Cadar D, Frickmann H. On detection thresholds - a review on diagnostic approaches in the infectious disease laboratory and the interpretation of their results. Acta Trop. 2020 May;205:105377. doi: 10.1016/j.actatropica.2020.105377. Epub 2020 Jan 30.
10. Hansen GT (2019). Point-of-care testing in microbiology: A mechanism for improving patient outcomes. Clin Chem. 304782.
11. Day SP, Jackson CL, Nolte FS, Tezak-Fragale Z (2015) Molecular diagnostic methods for infectious diseases. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 3rd ed. CLSI report MM03, Wayne, PA, USA.
12. Kramer A, Gruner E (2017) Bedeutung der Hygiene beim POCT. Kapitel 29 in: Luppä PB, Junker R (Eds.) POCT – Patientennahe Labordiagnostik. 3. Auflage 2017, Springer Verlag Berlin.
13. ABAS (Stand: Beschluss 6/2020 02.12.2020) Empfehlungen zu Arbeitsschutzmaßnahmen bei der Point-Of-Care-SARS-CoV-2 Diagnostik. https://www.baua.de/DE/Themen/Arbeitsgestaltung-im-Betrieb/Coronavirus/pdf/Point-Of-Care-SARS-CoV-2%20Diagnostik.pdf?__blob=publicationFile&v=2.
14. Huzly D, Panning M. Implementation of a rapid influenza PCR algorithm at the emergency department of a large university hospital. Poster presentation Annual Meeting of the European Society of Clinical Virology, Stresa, Italy, Sept 2017

| Glossar | |
|---|---|
| ABAS | Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe |
| CLIA | Clinical Laboratory Improvement Amendments |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| ID-POCT | Infectious disease POCT (Nachweis von Krankheitserregern) |
| Cp-Wert Cq-Wert Ct-Wert | Der Ct-Wert (Abkürzung für cycle threshold) ist eine variierende theoretische Größe bei der Quantifizierung von DNA-Molekülen während einer real-time qPCR und gibt die Anzahl der durchgeführten Zyklen wieder, nach denen während der PCR ein positives Signal erhalten wird. Synonym werden häufig auch die Bezeichnungen Cp-Wert (crossing point) oder Cq-Wert (quantification cycle) benutzt |
| IfSG | Infektionsschutzgesetz |
| LFIA | Lateral Flow ImmunoAssay |
| LIS/KIS-Netzwerk | Krankenhausweites Netzwerk, das das Krankenhaus-Informationssystem (KIS) mit dem Laborinformationssystem (LIS) verbindet |
| LTD | Laboratory Developed Test – d.h. der Test ist ein vom Labor selbst entwickeltes und validiertes Untersuchungsverfahren, in welchen Reagenzien, Kits, Kontrollen, Geräte oder in Kombination von CE- und nicht CE-gekennzeichneten Komponenten eingesetzt werden |
| MPG | Medizinproduktegesetz |
| Multiplex-PCR | Nachweis mehrerer Krankheitserreger in einem Assay-Lauf |
| NAT | Nucleid Acid Testing. Nukleinsäureamplifikationstechnik, z. B. Polymerase Kettenreaktion (PCR), einschl. Systeme mit isothermaler Amplifikation sowie mit alleiniger Signalamplifikation |
| NAT-Systeme, geschlossene | Systeme (z. B. Unit-use Testkartuschen), die bereits alle erforderlichen Reagenzien enthalten, einschließlich gebrauchsfertiger Einzelabpackungen für die Probenvorbereitung, und bei denen nach Zugabe der Untersuchungsprobe keinerlei weitere Reagenzien von außen eingebracht werden bzw. in die Systeme eindringen können |
| POCT | Point-of-Care Testing, patientennahe Sofortdiagnostik |
| POCT-Koordination(sstelle), POCT-Kommission | Eine in einem Krankenhaus für POCT verantwortliche Einrichtung, die die Qualität der dezentral erbrachten Laborbestimmungen sicherstellen soll. Sie wird von einem POCT-Koordinator geleitet. Dieser wird i.d.R. vom Vorstand eines Krankenhauses benannt. Er stimmt seine Tätigkeiten im Rahmen einer POCT-Kommission mit den POCT-betreibenden Abteilungen ab. Wenn eine Alleinverantwortung eines mikrobiologischen/virologischen Labors für NAT-POCT-Verfahren etabliert ist, wird die POCT-Koordination nicht benötigt |
| Rili-BÄK | Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen |

Anschrift für die Verfasser:

Prof. Dr. med. Peter B. Lupp
 Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie
 Klinikum rechts der Isar der TU München
 Ismaninger Str. 22, D-81675 München
 Fax +49-89-4140-4875; E-mail p.luppa@tum.de