

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde eine analytische Plattform entwickelt, die mit den integrierten Fluidik-Komponenten zu einem tragbaren Vor-Ort-Analysegeräts noch weiter miniaturisiert werden kann. Die Optimierung der Oberflächenchemie zur Beschichtung der Biosensor-Einheit führte für beide organspezifischen Parameter zur Verwendung des Bindungs-Hemm-Tests als Assayformat auf einer Aminodextran-Oberfläche. Die Lipase kann aktuell in Puffer quantitativ bestimmt werden und Cystatin C auch schon in humanem Serum. Eine Validierung mit Patientenproben steht noch aus und wird in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner im Universitätsklinikum Tübingen durchgeführt werden.

Forschungsstellen

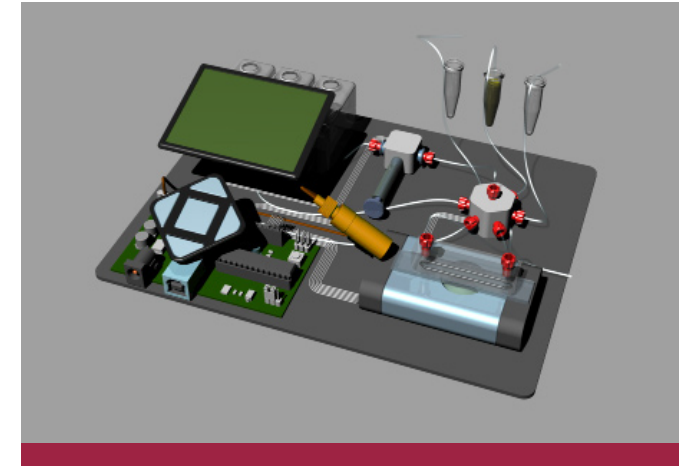
Universität Tübingen
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Prof. Dr. Günter Gauglitz

Universitätsklinikum Tübingen
Abteilung Klinische Chemie/Zentrallabor
Prof. Dr. Erwin Schleicher

Das IGF-Vorhaben 16696N der Forschungsvereinigung F.O.M. (Forschungsvereinigung Feinmechanik, Optik und Medizintechnik e.V., Werderscher Markt 15, 10117 Berlin) wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Universität Tübingen

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Arbeitsgruppe Prof. Gauglitz
Auf der Morgenstelle 18, 72076 Tübingen
Telefon +49 7071 29-76927 · Telefax +49 7071 29-5774
<http://www.mnf.uni-tuebingen.de/fachbereiche/chemie/institute/physikalische-chemie/professoren/ag-gauglitz/>



MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHE FAKULTÄT
Fachbereich Chemie

ACUTLAB

Entwicklung eines Vor-Ort-Analysesystems
für organspezifische Notfallparameter

Gefördert durch:

DAS PROJEKT

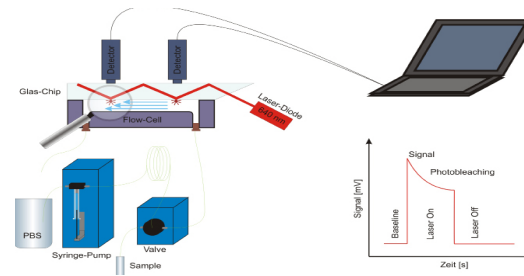
Die Notwendigkeit in unmittelbarer Nähe zum Patienten Analysen durchführen zu müssen, hat in den letzten Jahren zu vielen neuen Entwicklungen im Bereich Point-of-Care-Testing (POCT) geführt. Ziel ist es, sowohl in Kliniken bei lebensbedrohlichen Notfallsituationen diagnostisch relevante Laborwerte so zeitnah wie möglich bestimmen zu können, als auch im ambulanten Bereich für ärztliche Beratung von Patienten bis hin zur Patientenselbstkontrolle im Home-Care-Bereich neue Möglichkeiten zu eröffnen. Die bisher zur Verfügung stehenden POCT-Messgeräte werden zur Blutzuckerbestimmung von Patienten selbst verwendet oder zum Teil auf Intensivstationen (z.B. Blutgaswerte) bzw. in Praxen, Ambulanzen oder im (Not-) Einsatzwagen.

Die in der klinisch-chemischen Diagnostik verwendeten und etablierten Parameter zur Erkennung von Organschäden (Herz, Niere, Leber, Pankreas) sind nicht auf einer POCT-Plattform verfügbar. Mit Hilfe dieser spezifischen Laborparameter könnten Organschäden frühzeitig, auch ohne klinische Symptomatik, erkannt werden. Diese klinisch akzeptierten Laborparameter werden zurzeit in zentralisierten Laboratorien routinemäßig und in großer Zahl weltweit bestimmt.

Ziel des Projekts ist die Entwicklung eines neuen, benutzerfreundlichen Vorortanalysengerätes mit dem sich diese Laborparameter quantitativ, reproduzierbar, parallel und präzise bestimmen lassen. Das Gerät, mit dessen Hilfe der Arzt oder eine medizinisch ausgebildete Hilfskraft die Analyse aus einer kleinen Blutprobe rasch ausführen kann, ist für den Einsatz vor Ort d.h. in der Nähe des Patienten vorgesehen.

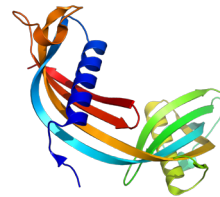
Die quantitative Detektion von Analyten soll nach spezifischer Bindung an Antikörper über Fluoreszenz erfolgen. Die „totale innere Reflexionsfluoreszenz“-Technologie (TIRF) bleibt von der Probenmatrix (Serum, Blut) relativ unbeeinflusst und eine Analysenapparatur lässt sich aus käuflichen Standardkomponenten stark miniaturisieren ohne analytische Performance einzubüßen. Als Marker für die Nierenfunktion soll Cystatin C und für die Pankreasdiagnostik die Pankreas-Lipase bestimmt werden.

ZIELE



1. Aufbau eines Gerätefunktionsmuster für den Einsatz im POCT-Bereich
2. Etablierung von spezifischen Antikörpern für die Pankreas-Lipase
3. Assayentwicklung für Cystatin C und Pankreas-Lipase

DIE PARAMETER

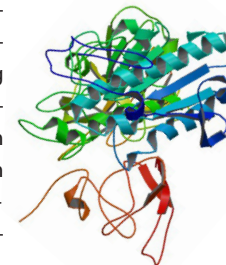


Cystatin C:

Cystatin C ist ein Biomarker für die Nierenfunktion und lässt im Vergleich mit bereits etablierten Markern wie Kreatinin, eine frühzeitigere und zuverlässigere Diagnose zu, da die Konzentration nicht von Alter, Geschlecht sowie Ernährungsgewohnheiten abhängt.

Pankreas-Lipase:

Die Pankreas-Lipase ist ein organspezifischer Parameter, der auf akute Schäden der Bauchspeicheldrüse (Pankreas) hinweist. Bei Schädigung des Pankreasgewebes erhöht sich die Lipase-Konzentration im Blut. Im Vergleich zum etablierten Parameter α -Amylase, lässt sich dieser Marker noch über einen längeren Zeitraum im Blut nachweisen und ist ebenfalls unabhängig von Alter, Geschlecht oder Ernährungsgewohnheiten.

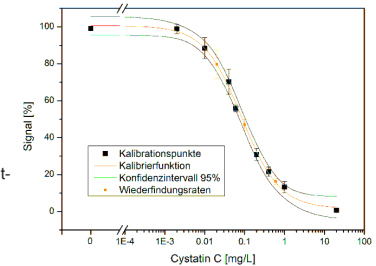


ERGEBNISSE

Es wurde ein Gerätefunktionsmuster aufgebaut, welches zur Detektion die „totale innere Reflexionsfluoreszenz“ (TIRF) nutzt. Die Fluidik setzt sich aus einer Spritzenpumpe mit Ventil, sowie einer kompakten Flusszelle (aus PMMA) zusammen. Die Fluoreszenz-anregung erfolgt mit einem justierbaren Laser (640 nm), der in einen angeschrägten beschichteten Glas-Transducer einkoppelt. Senkrecht zur Transducer-Oberfläche kann die Fluoreszenz an den Punkten der totalen Reflexion von einem Fluoreszenzdetektor bestimmt werden.

Zu Bestimmung des optimalen Assay-Formats wurde sowohl der Sandwich-Assay, als auch der Bindungsinhibitionstest untersucht. Es hat sich gezeigt, dass die Sensoroberfläche beim Bindungsinhibitionstest stabiler ist und für beide Parameter die besten Ergebnisse liefert. Für Cystatin C konnte eine Kalibrierung in Puffer und in Serum durchgeführt werden sowie eine Quantifizierung von Cystatin C in Realproben.

Konzentrationsreihe in Phosphat-Puffer zur Bestimmung von Cystatin C



Der Lipase-Assay ist reproduzierbar und die Sensoroberfläche regenerierbar. Bisher konnte eine Kalibrierung in Puffer durchgeführt werden. Weitere Untersuchungen des Assays in Serum stehen noch aus.

Konzentrationsreihe in Phosphat-Puffer zur Bestimmung von Pankreas-Lipase

