# Evaluation des Molecular Mouse Real-Time PCR Systems

Redona Osmani, BMA 21-24

**Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF**

**Dr. Risch, Mikrobiologie, Liebefeld**

## 1. Zusammenfassung

Sepsis ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, die meist durch Bakterien verursacht wird und eine rasche, gezielte Behandlung erfordert. Verzögerungen bei der Identifikation der Erreger und der Auswahl passender Antibiotika können die Prognose erheblich verschlechtern und das Risiko für Komplikationen sowie die Sterblichkeit erhöhen. Übliche Nachweismethoden benötigen oft sieben bis 20 Stunden. Moderne molekulare Testverfahren, wie das Molecular Mouse System, können diese Zeit deutlich verkürzen. In dieser Studie mit 50 positiven Blutkulturen zeigte das System eine Sensitivität von 93,33 % und verkürzte die Zeit zur Erregeridentifikation um mehrere Stunden im Vergleich zur Standardmethode. Diese Ergebnisse unterstreichen das Potenzial des Molecular Mouse Systems, den diagnostischen Prozess bei Sepsis entscheidend zu beschleunigen und dadurch die Überlebenschancen der Patientinnen und Patienten zu verbessern.

## 2. Einleitung

Die schnelle und zielgerichtete Behandlung entscheidet bei einer Sepsis massgeblich über den Heilungsverlauf. Es ist daher von grosser Bedeutung, dass der Erregernachweis und die Antibiotikatherapie so schnell und erregerspezifisch wie möglich erfolgen, um die Überlebenschancen der Patientinnen und Patienten zu verbessern [1] . Ausserdem kann dadurch die Entstehung von Resistenzen eingedämmt werden. Aus diesem Grund evaluiert die medizinische Mikrobiologie des Labors Dr. Risch in Liebefeld ein neues Gerät, das die Zeit bis zum Erhalt des Resultats von Identifikationen gramnegativer Bakterien in positiven Blutkulturen Abb. 1 verkürzt. Der Erregernachweis geschieht mittels Abnahme von Blutkulturen, welche im Labor inkubiert werden. Dort werden positive Blutkulturen weiterverarbeitet, was je nach Labor und Testverfahren variieren kann. In der Regel dauert es jedoch etwa bis zu 20 Stunden, um die Erreger zu identifizieren. Dazu gehört auch das Molecular Mouse System, ein kompaktes, leichtes Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-Gerät. Hierbei werden die Proben vorbereitet, in eine Kartusche geladen, mittels Multiplex-Echtzeit-PCR analysiert, und durch die Software ausgewertet [2]. Die Molecular Mouse Kartuschen enthalten die spezifischen Reagenzien zum Nachweis mehrerer Nukleinsäuresequenzen und es sind verschiedene Kartuschen für definierte Erregergruppen erhältlich. Die Bakterien können mit diesem Gerät innerhalb von einer Stunde und 15 Minuten identifiziert werden. In dieser Evaluation wird die Kartusche für gramnegative Bakterien verifiziert, da dies die häufigsten Verursacher von Bakteriämien sind.

## 3. Ziele und Fragestellungen

Kann man gramnegative Bakterien aus positiven Blutkulturen mittels Molecular Mouse System in kurzer Zeit mit gleicher Zuverlässigkeit wie die Standardmethode (MALDI-TOF MS ab Festkultur) identifizieren? Wie hoch ist die Sensitivität der neuen Methode im Vergleich zur Standardmethode?

**Referenzen**
[1] Huang, M., Cai, S., & Su, J. (2019). The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(21), 5376.https://doi.org/10.3390/ijms20215376
[2] ALIFAX S.r.l. (2023a). *Molecular Mouse Gerät*. Benutzerhandbuch

**Tabellen und Abbildungen**
Tab. 1 Osmani, R. (2024). *Vierfeldertafel für die Berechnung der Sensitivität und Spezifität*. medi.
Abb. 1 & 2 Osmani, R. (2024). *Säulendiagramm, Vergleich der Probenverarbeitungszeiten am Morgen zwischen Molecular Mouse und MALDI-TOF MS*. medi.

## 4. Methodik

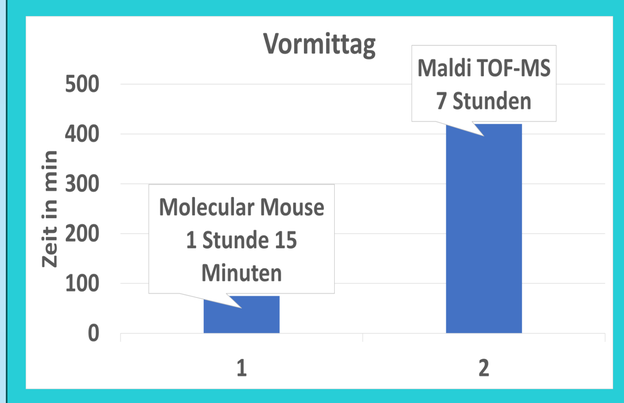
In dieser wissenschaftlichen Arbeit wurden folgende Methoden angewendet:
**Gramfärbung**: Die Gramfärbung ist eine zentrale Methode zur Klassifizierung von Bakterien in grampositive (violett) und gramnegative (rot) Bakterien, basierend auf ihrer Zellwandstruktur. Diese Technik ermöglicht den Nachweis der meisten klinisch relevanten Bakterien und Pilze.
**Real-Time PCR:** Die Real-Time PCR (qPCR) erlaubt die Amplifikation und Detektion von DNA in Echtzeit. Das Molecular Mouse System, das in dieser Arbeit verwendet wurde, setzt auf Multiplex-PCR zur Identifikation gramnegativer Bakterien. Dabei werden fluorogene Sonden eingesetzt, die eine gleichzeitige Analyse mehrerer Erreger ermöglichen. Die Ergebnisse liegen innerhalb von 1 Stunde und 15 Minuten vor.
**Massenspektrometrie**: Die Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisierung-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) wurde zur schnellen Identifikation von Mikroorganismen eingesetzt. Durch Ionisierung der Proben und Messung der Flugzeit der Ionen kann ein Massenspektrum erzeugt werden, das mit einer Datenbank abgeglichen wird. Dies ermöglicht eine präzise und schnelle Identifikation von Bakterienarten.

## 5. Ergebnisse/ Resultate

**Sensitivität: = 93.33 %** **Spezifität: = 80.00 %**

| | Positive Proben | Negative Proben | Total |
|---|---|---|---|
| **Test positiv** | 42 (richtig positiv) | 1 (falsch positiv) | 43 |
| **Test negativ** | 3 (falsch negativ) | 4 (richtig negativ) | 7 |
| **Total** | 45 | 5 | 50 |

Tabelle 1 Vierfeldertafel zur Ermittlung der Sensitivität und Spezifität (Osmani, 2024)



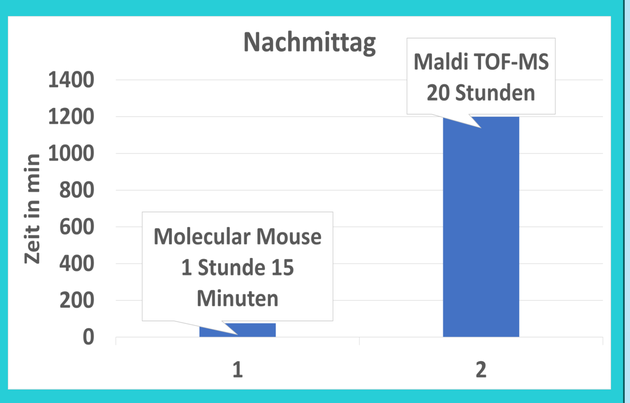




Abbildung 1 & 2 Säulendiagramm, Vergleich der Probenverarbeitungszeit am Morgen und Nachmittag zwischen Molecular Mouse und MALDI-TOF MS (Osmani, 2024)

## 6. Diskussion

Die Untersuchung zur diagnostischen Leistung des Molecular Mouse Systems ergab eine Sensitivität von 93,33 % Tab.1, was auf eine hohe Genauigkeit bei der Identifikation gramnegativer Bakterien in positiven Blutkulturen hinweist. Allerdings wurden in 6,66 % der Fälle Erreger wie *Pseudomonas aeruginosa* und *Serratia marcescens* nicht korrekt detektiert, was auf eine mögliche Verbesserung der PCR-Primer hinweist. Die Spezifität lag bei 80 %, wobei eine falsch positive Probe auf eine Kreuzkontamination hinweisen könnte. Obwohl die angestrebte Übereinstimmung von 95 % knapp mit 92 % verfehlt wurde, kann das System dennoch aufgrund seiner schnellen Resultatserhebung (1 Stunde und 15 Minuten) gegenüber der herkömmlichen Methode (7 bis 20 Stunden) Abb. 1 und 2 signifikante Vorteile bieten, insbesondere in Notfallsituationen. Die schnellere Verfügbarkeit der Ergebnisse kann zu einer rascheren Anpassung der Antibiotikatherapie und einer besseren Patientenversorgung beitragen.