



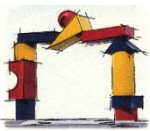
UNIVERSITÄTS**medizin.**

MAINZ

Therapieoptimierung im klinischen Alltag mittels Multiplex Array zur Pathogen-Diagnostik am Beispiel des MutaCHIP Respira

Univ.-Prof. Dr. S. Gehring

Universitätsmedizin Mainz



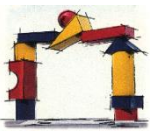
Atemwegsinfektionen bei Kindern

- Epidemiologie -



- Bis zu 10 Atemwegsinfektionen / Jahr hat ein dreijähriges Kind
- Etwa 10 % aller stationären Aufnahmen von Kinderkliniken sind durch Atemwegsinfektionen bedingt
- Etwa 1/3 aller Kinder unter 15 Jahre bekommen in einem Zeitraum von 12 Monaten ein Antibiotikum rezeptiert

Quelle: Stellenwert der Multiplex-PCR bei Atemwegsinfektionen im Kindesalter. Krause et al. Dt Ärzteblatt 2014



Atemwegsinfektionen bei Kindern

- Diagnostische Herausforderung -



1 Jahr alt:
alveoläre Infiltrate

Rhinovirus



7 Jahre alt:
Alveoläre Infiltrate

humanes Metapneumovirus

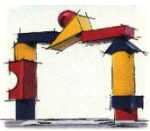
6 Jahre alt:
Alveoläre Infiltrate

Enterovirus-D68



16 Jahre alt:
alveoläre und interstitielle Infiltrate

Adenovirus



Atemwegsinfektionen bei Kindern

- Vielzahl auslösender Erreger -



Bakterien

colonizer

S. pneumoniae

H. influenzae b & non b

M. catarrhalis

S. pyogenes

S. aureus

non colonizer

B. pertussis

B. parapertussis

M. pneumoniae

C. pneumoniae

Legionella spp.

Viren

Paramyxo-

RS Virus

Parainfluenza 1

Parainfluenza 2

Parainfluenza 3

Parainfluenza 4

hMPV

Influenza A

Influenza A H1N1

Influenza B

Picorna-
viridae

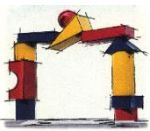
Enterovirus

Rhinovirus

Coronavirus

Adenovirus

Bocavirus

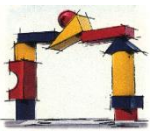


Atemwegsinfektionen bei Kindern

- breites Angebot an Diagnostik-



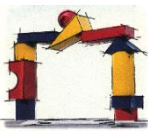
- **Kultur**
 - Zeit- und arbeitsaufwändig
- **Serologie**
 - Nachweis eines vierfachen Titeranstiegs
- **Schnellteste**
 - Detektion von Nukleoprotein-Antigenen in Atemwegsproben
 - Sensitivität 50-70% (Influenza) und 70-80% (RSV) verglichen mit Kultur und RT-PCR
 - Spezifität 90-95% (Influenza) und 70-80% (RSV) (Quelle: CDC Online)
- **PCR**



Atemwegsinfektionen bei Kindern

- Limitierungen der aktuellen Diagnostik-

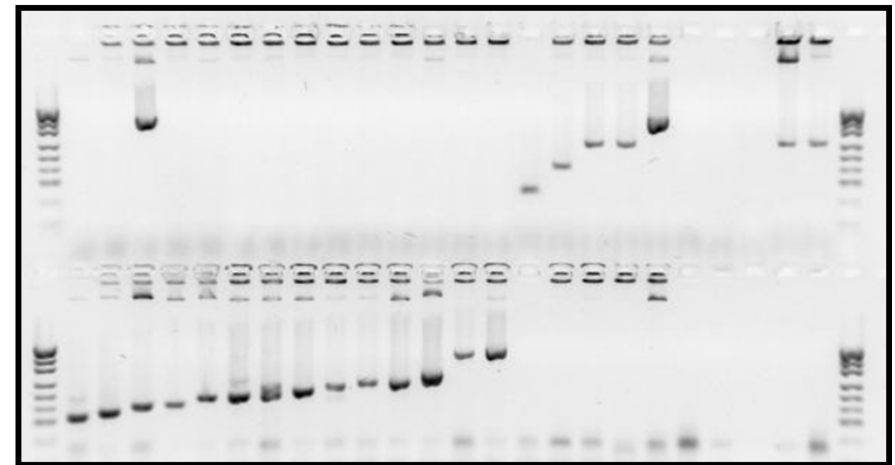


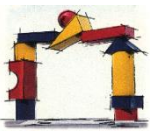


BMBF-geförderte Entwicklung einer „in-house“ Multiplex-RT-PCR-ELISA“



lane	pathogen	fragment [bp]	amplified regions
A 1	B. parapt.	126	upst. Porin Gen
2	Adenovirus	134	Hexon Gen
3	Enterovirus	154	5' noncoding region
4	L. pneumophila	156	23s-rRNA
5	Parainfluenza 1	179	hemagglutinin neuraminidase
6	Influenza A	190	non structural protein
7	B. pertussis	194	IS481
8	Parainfluenza 2	205	Nucleocapsid Protein Gen
9	Parainfluenza 3	225	hemagglutinin neuraminidase
10	RSVirus	239	fusion protein F1 subunit
11	Influenza B	249	non structural protein
12	M. pneumoniae	277	16s-rRNA
13	Parainfluenza 4	413	Phosphoprotein Gen
14	C. pneumoniae	463	16s-rRNA
B 15	Influenza A H1N1	77	Haemaggl. Gen
17	Metapneumovirus	149	N-Gen
18	Coronavirus OC43	240	M-Gen
19	Coronav 229E	241	RNA dep RNA Pol
20	Rhinovirus	391	5' untranslated region
21	neg. cont. RT-PCR		
22	neg. cont. PCR		
23	CV OC43	240	M Gen
24	CV 229E	241	RNA-dep. RNA Pol
St	pUC/Mspt. 501 bp; 404 bp; 331 bp; 242 bp; 190 bp; 147 bp; 111 bp		



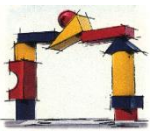


Ergebnisse der „in-house“ Multiplex-RT-PCR-ELISA“

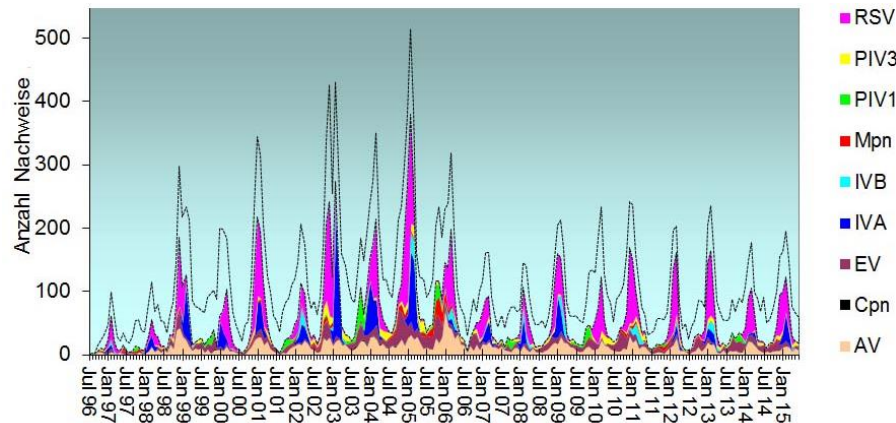


Untersuchung von
über 20.000
hospitalisierten
Kindern seit 1998

	Anzahl	%
RV	5993	36,38%
RSV	2757	16,73%
AV	1605	9,74%
EV	1206	7,32%
IVA + H1N1	1034	6,28%
MPV	966	5,86%
CV	582	3,53%
PIV3	547	3,32%
Mpn	333	2,02%
IVB	316	1,92%
H1N1	308	1,87%
PIV1	287	1,74%
PIV2	181	1,10%
PIV4	172	1,04%
Bp	118	0,72%
Bpp	36	0,22%
Cpn	34	0,21%
Lpn	0	0,00%



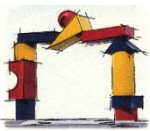
Ergebnisse der „in-house“ Multiplex-RT-PCR-ELISA“



- RSV:** epidemisch jährlich / früh & intensiv in geraden, spät und schwächer in ungeraden epidemiologischen Jahren
- MPV:** epidemisch jährlich / azyklisch zu RSV (Start und Intensität)
- PIV1&2:** epidemisch alle zwei Jahre (ungerade) / azyklisch zu RSV
- PIV3:** endemisch + epidemisch im Frühjahr
- IVA/B:** epidemisch mit Start um die Jahreswende (IVB meist unregelmäßig und weniger intensiv)
- RV/EV:** endemisch mit erhöhter Inzidenz im Herbst-Winter (Co-Infektionen)
- AV:** endemisch mit erhöhter Inzidenz im Winter (Co-Infektionen)
- CV:** epidemisch mit erhöhter Inzidenz im Winter (Co-Infektionen)

Allgemeine Beobachtungen:

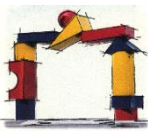
- Saisonalität
- Regelmäßigkeit im Auftreten von Epidemien
- Vorhersagemöglichkeiten



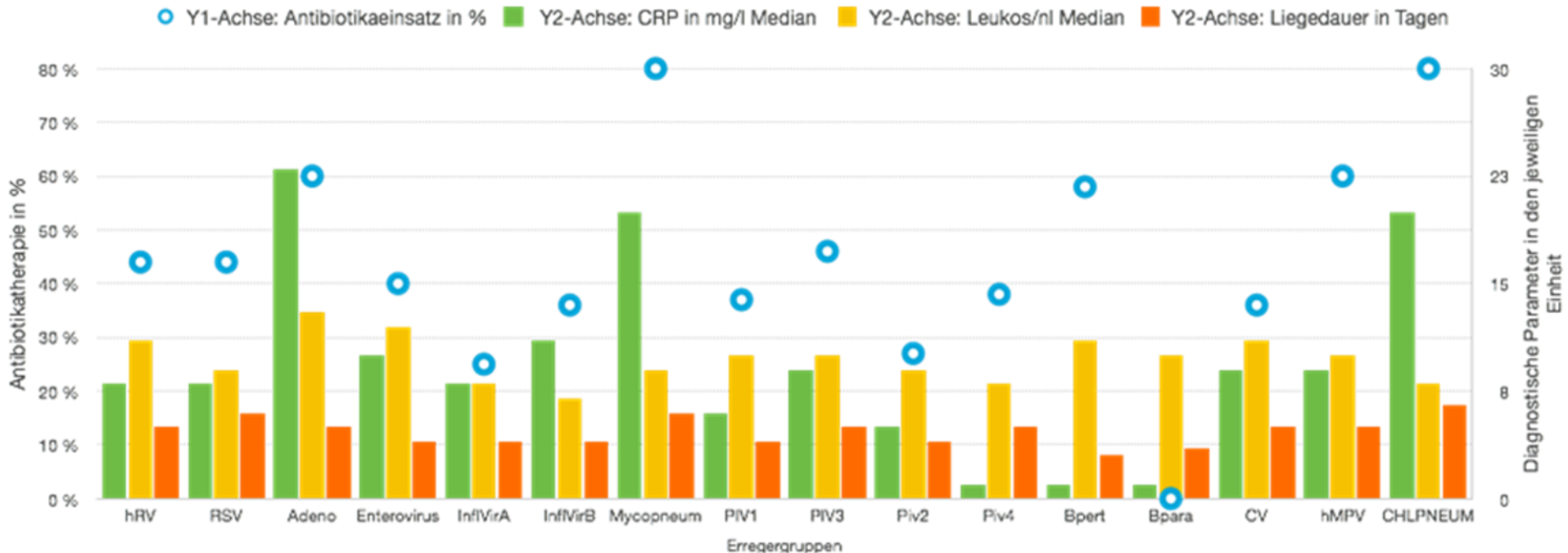
Ergebnisse der „in-house“ Multiplex-RT-PCR-ELISA“



- **Detektion eines großen Spektrums von ARI-Erregern**
- **Kenntnis der aktuellen Erreger-Epidemiologie**
- **Diagnose erlaubt spezifische Prophylaxe / Therapie**
(kürzere Behandlungsdauer, weniger Antibiotika)
- **„Learning by knowing“:**
Welche Erreger verursachen welche Symptome?
- **In Kombination mit klinischen Daten gut geeignet für epidemiologische Fragestellungen**



Limitierungen „in-house“ Multiplex-RT-PCR-ELISA“



Zu langsam für den klinischen Alltag, deshalb:

- Keine Steuerung der Therapie möglich (zu häufige antibiotische Therapien)
- Keine Kohortierung von Patienten möglich
- Aufwendig in der Durchführung



Therapieoptimierung im klinischen Alltag mittels Multiplex Array zur Pathogen-Diagnostik am Beispiel des MutaCHIP Respira

Prof. Dr. Stephan Gehring
Sektionsleiter Pädiatrische Intensivmedizin,
Infektiologie & Gastroenterologie
Universitätsmedizin Mainz

Moritz Eidens
Wissenschaftlicher Leiter MutaCHIP
Geschäftsführer
Pharmgenomics GmbH

- GmbH mit Sitz in Mainz
- 11 Mitarbeiter, überwiegend im FuE-Bereich

EN ISO 9001
Qualitätsmanagement



EN ISO 13485
Medizinprodukte



EN ISO 13485
Medizinisches Laboratorium



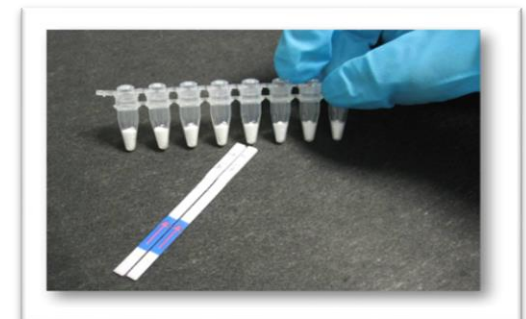
Real-Time PCR



Microarray Chip

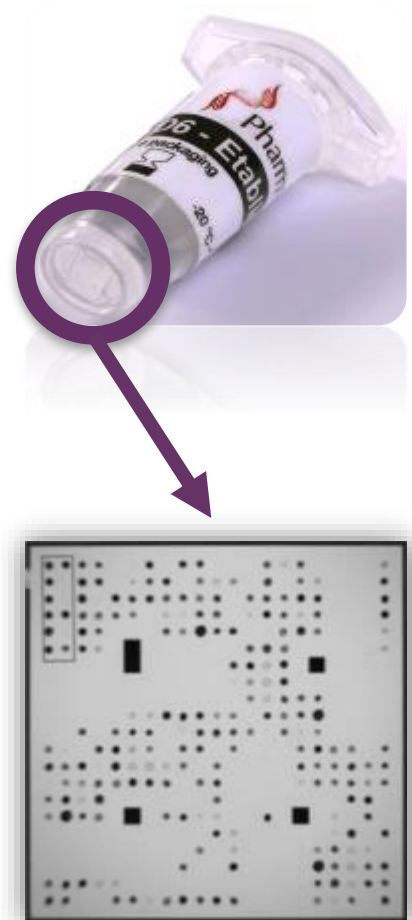


vollständig integriertes
“Lab-on-a-Stick”



+ MutaCHIP Technologie

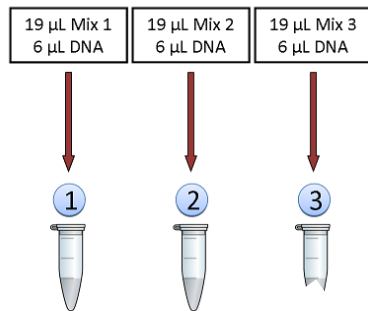
- Standard 1.5mL Gefäß mit integriertem Microchip
- Keimbahn- und somatische Genveränderungen
- Mutationen, SNPs, chromosomale Insertionen und Deletionen
- multiple Verifikationen und Kontrollen implementiert



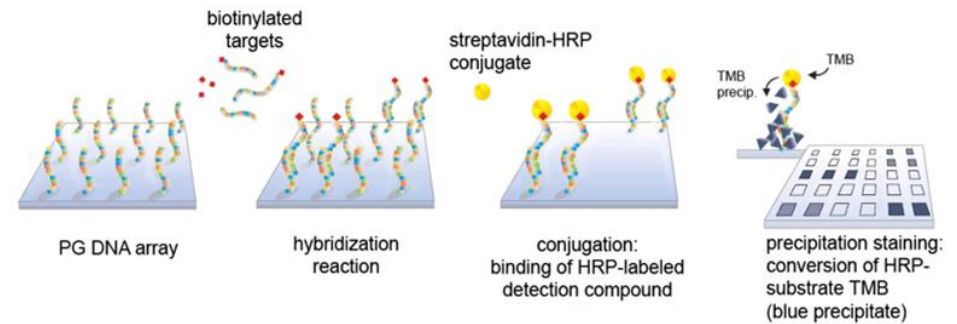


Workflow I

- Schritt 1: PCR Amplifikation mit Master Mix Röhrchen



- Schritt 2: Durchführung des Microchips



■ Schritt 3: Chipanalyse





MutaCHIP Respira

- Adenovirus
- Bordetella pertussis
- Bordetella parapertussis (BPP)
- Coronavirus (CoV) OC43
- Coronavirus (CoV) 229E
- Coronavirus (CoV) NL63
- Coronavirus (CoV) HKU1
- Chlamydophila pneumoniae
- human Metapneumovirus A (hMPV A)
- human Metapneumovirus B (hMPV B)
- Influenza A
- Influenza A H1N1-2009
- Influenza B
- Legionella pneumophila
- Mycoplasma pneumoniae
- Parainfluenza virus 1 (PIV 1)
- Parainfluenza virus 2 (PIV 2)
- Parainfluenza virus 3 (PIV 3)
- Parainfluenza virus 4 (PIV 4)
- Picornavirus (Enterovirus/Rhinovirus)
- Respiratory syncytial virus A
- Respiratory syncytial virus B



Portfolio

18

BRUSTKREBS
THERAPIE



PHARMAKO
GENETIK



OSTEOPOROSE
FRÜHERKENNUNG



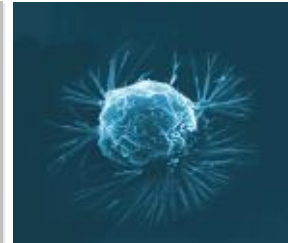
NUTRIGENOMIK



ARTERIOSKLEROS
E
FRÜHERKENNUNG



ONKOLOGIE



OPTIMIERUNG
CHEMOTHERAPIE



ERREGER
DIAGNOSTIK





Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Besuchen Sie unseren Stand!