

Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Im KMU-innovativ - Verbundprojekt:

Molekulare Tuberkulosedagnostik am Point-of-Care (MDxTB)

Teilvorhaben

Entwicklung eines Präanalytik-Systems und molekulardiagnostischen Assays zum Nachweis von Tuberkulose auf der CYCLER Technologieplattform

Akronym: MDxTB

FKZ: 13GW0393A

Inhalt

1. Teil I – Kurzbericht	3
2. Teil II – Ausführlicher Sachbericht	3
2.1 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde.....	3
2.2 Planung und Ablauf des Vorhabens.....	4
2.3 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	7
2.4 Beschreibung der Ergebnisse	7
2.5 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises.....	10
2.6 Verwertbarkeit der Ergebnisse / Veröffentlichungen	10
2.7 Fortschritte Dritter auf dem Gebiet des Vorhabens	11
3. Teil III – Erfolgskontrollbericht	11

1. Teil I – Kurzbericht

Mit 1.3 Millionen Todesfällen weltweit im Jahr 2017 gilt die Tuberkulose (TB), verursacht durch bakterielle Krankheitserreger aus dem *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBK), weiterhin als die häufigste Todesursache durch einen einzelnen Infektionserreger. TB ist durch eine mehrmonatige medikamentöse Kombinationstherapie in der Regel heilbar. Die zunehmende Anzahl an Infektionen durch antibiotikaresistente Erreger gibt jedoch Anlass zur Sorge. Bei diesen Erkrankungsfällen wird zwischen der „multidrug-resistant tuberculosis“ (MDR-TB) mit Resistenz gegenüber den beiden Erstrangmedikamenten Isoniazid (INH) und Rifampicin (RIF) sowie der „extensively drug-resistant tuberculosis“ (XDR-TB) mit zusätzlicher Resistenz gegenüber den Aminoglykosiden sowie den Fluorchinolonen unterschieden. MDR- und XDR-TB machen eine wesentlich längere, nebenwirkungsreichere und insgesamt weniger wirksame antimikrobielle Chemotherapie erforderlich. Die globale Erfolgsrate für die Behandlung der TB liegt derzeit bei inakzeptablen 55 Prozent. Um diese Situation zu verbessern, werden Tests zur schnellen Diagnostik von TB und wichtiger Medikamentenresistenzen neben wenigen anderen Infektionserkrankungen auf der ersten „WHO list of essential tests“ priorisiert.

Ziel des Verbundprojekts „MDxTB“ ist die Entwicklung eines molekular diagnostischen Verfahrens zur Point-of-Care (PoC) Analyse von TB. Dabei soll die CYCLE® Dx Technologie der FRIZ Biochem GmbH so ausgebaut werden, dass sowohl die rasche Erregeridentifikation als auch eine molekulargenetische Beurteilung wichtiger Antibiotikaresistenzen direkt aus Patientenmaterial, also ohne vorausgehende Kultivierung des Erregers, ermöglicht wird. Neben einer hohen Testperformance soll das zu entwickelnde Verfahren weitestgehend automatisiert und auf niedrige Kosten ausgerichtet sein, um neue Strategien zur TB-Diagnostik und -Therapie insbesondere in strukturschwachen Regionen zu ermöglichen.

In einem ersten Schritt wurde hierzu die Konzeption und Umsetzung eines Probenbehälters realisiert. Die benötigten Funktionsmuster liegen vor und die erfolgreiche Solubilisierung/Inaktivierung des künstlichen Sputums sowie die Isolierung und Aufschluss des Impfstamms in den jeweiligen Komponenten des Präanalytik-Systems konnte gezeigt werden. Die anschließenden Versuche zur Übertragung des TB ja/nein Assays auf das CYCLE® Dx Format verliefen erfolgreich. Ergänzend wurden verschiedene Assays für den Nachweis der INH- und RIF-Resistenzen entwickelt und getestet. Das für die Verwendung des Probenbehälters notwendige Redesign der Kartusche wurde realisiert und erfolgreich abgeschlossen. Diese Arbeiten beinhalteten ebenfalls die Verwendung neuer Chips mit gesteigerter Analysekapazität. Das Redesign wurde erfolgreich auf prinzipielle Funktion getestet und die Kartuschen anschließend auf vollständige Analysefähigkeit spezifiziert und validiert. Parallel wurden die Inaktivierung und der Aufschluss der Proben erfolgreich etabliert. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Technologie in den Komponenten Gerät (processing unit, inklusive Ultraschall Probenvorbereitungsmodul), Kartusche (analysis unit) und Probenbehälter (sampling unit) erfolgreich für die Anwendung im Bereich molekularbiologischer Diagnostik für den Nachweis von Tuberkulose angepasst werden konnte.

2. Teil II – Ausführlicher Sachbericht

2.1 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die CYCLE® Dx Technologie wurde in den letzten 12 Jahren für ca. 18 Mio. € entwickelt. Aus dieser Historie ergibt sich die langjährige und nachhaltige Erfahrung der FRIZ in den Bereichen Assayentwicklung, Entwicklung von DNA-Chips und Entwicklung von diagnostischen Point-of-Care Systemen. Das überwiegend akademisch ausgebildete Personal der FRIZ Biochem GmbH deckt alle Kompetenzbereiche der notwendigen Projektarbeiten von der Software-Entwicklung über Konstruktion, Physik und Chemie bis hin zur Biologie/Medizin ab. Ihre technologischen Entwicklungen konnte die FRIZ in mehreren deutschen und internationalen Patentanmeldungen für die nachhaltige, kommerzielle Nutzung absichern.

Auszug aus der Patenthistorie der FRIZ Biochem GmbH:

- G. Hartwich, E. Ferrer, P. Frischmann (2001), Multifunktionales Reagenz zur Synthese von thiolmodifizierten Oligomeren, DE 101 63 836.
- G. Hartwich, H. Lossau, C. Musewald, H. Wieder, N. Persike (2003), Elektrisches Substrat zum Einsatz als Träger für Biomoleküle, DE 102 61 528.
- G. Hartwich (2008), Verdrängungsassay zur Detektion von Nukleinsäureoligomer-Hybridisierungsereignissen, DE 10 2007 044 664.
- G. Hartwich, N. Persike (2009), Vorrichtung zur Durchführung einer PCR, DE200910044431.

FRIZ arbeitet seit Jahren erfolgreich in der Test- und Technologieforschung im Bereich der medizinischen Diagnostik und erwirtschaftet Gewinne durch Verlizenzierung und den Verkauf proprietärer Chemikalien und Verfahren. Zu den Kunden zählen u.a. IDT Technologies, TriLink Biotechnologies und Merck Millipore (alle USA) sowie Diagnostiklabore, Teststationen und Arztpraxen in Deutschland und der Schweiz. FRIZ betreibt ein nach EN ISO 13485:2016 zertifiziertes Qualitätsmanagement-System mit dem Geltungsbereich: Design und Entwicklung, Produktion und Vertrieb, Installation und Service von Nukleinsäure basierenden in-vitro-diagnostischer Produkte, Kits und Plattformen für Infektionskrankheiten beinhaltend automatisierte Point-of-Care Lösungen. Das Risikomanagement wird nach ISO 14971 betrieben. Die CE-Kennzeichnung der IVD wird nach IVDR 2017/746 erfolgen. Die Entwicklung erfolgt nach einem definierten ISO 13485 konformen Entwicklungsprozess.

2.2 Planung und Ablauf des Vorhabens

Aufgabenstellung: In dem Verbundvorhaben „MDxTB“ sollte ein molekulardiagnostischer (MDx) Test zum Nachweis von Tuberkulose (TB) und den häufigsten bei TB auftretenden Antibiotikaresistenzen Rifampicin (RIF) und Isoniazid (INH) entwickelt werden, der als sample-to-result Ansatz patientennah am Point-of-Care (PoC) durchgeführt werden kann. Dazu wurde die von der FRIZ Biochem GmbH entwickelte CYCLE® Technologie, die auf elektrochemischer Detektion von DNA an Mikroelektroden-Arrays basiert, für die Tuberkulosedagnostik angepasst.

Die CYCLER Technologie bietet gegenüber anderen molekulargenetischen Schnelltests den Vorteil, dass sie nicht auf Fluoreszenz-Detektion angewiesen ist. Einerseits werden dadurch Kosten eingespart, da Fluoreszenzfarbstoffe und optische Detektionseinheiten teuer sind. Andererseits ist es mit der CYCLE® Technologie möglich, deutlich über fünf sequenzspezifische Marker auf einmal zu testen, was bei der Fluoreszenz-Detektion physikalisch bedingt nicht machbar ist. Vor allem für die Resistenztestung sind viele Parameter notwendig, da meist mehrere verschiedene Genmutationen mit einem Resistenz-Phänotyp assoziiert sind. Die CYCLE® Technologie erlaubt den Nachweis von RIF- und INH-Resistenzen, was wichtige Wettbewerbsvorteile gegenüber den am Markt befindlichen Referenzsystemen darstellt. Zudem erfordern die meisten anderen Methoden, wie auch die klassische Kultur zur Anzucht des *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBK), speziell ausgestattete Labore und hochqualifiziertes Personal. Das zu entwickelnde Präanalytik-System ermöglicht die Verarbeitung von Patientenmaterial direkt aus einem Primärprobengefäß ohne weitere Manipulation. Dies erlaubt die Anwendung des Testsystems außerhalb von Laboren der biologischen Sicherheitsstufe 3 und kann damit fast überall und von Jedermann durchgeführt werden.

Zielsetzung: Das Teilvorhaben „Entwicklung eines Präanalytik-Systems und molekulardiagnostischen Assays zum Nachweis von Tuberkulose auf der CYCLE® Technologieplattform“ übernahm die hard-, software- und assayspezifische Anpassung der Technologie an die Aufgabenstellung.

Für das Vorhaben war ursprünglich ein Durchführungszeitraum von insgesamt 33 Monaten vorgesehen. Ziel des Vorhabens „CYCLE® TB“ war der Ausbau eines technologischen Ansatzes zur automatisierten molekulardiagnostischen Point-of-Care (PoC) Analyse hin zu einem Verfahren, das sowohl die rasche Erregeridentifikation als auch eine molekulargenetische Beurteilung wichtiger Antibiotikaresistenzen direkt aus Patientenmaterial ermöglicht. Dazu wurde das Vorhaben in nachfolgende Arbeitspakete gegliedert:

- (i) Präanalytik und Konzeption eines Probenbehälters für die Probennahme und Aufbereitung
- (ii) Assayentwicklung
- (iii) Technologieadaption
- (iv) Validierung des Gesamtablaufs

Es ergaben sich zwei wesentliche Änderungen im Verbundprojekt:

- (i) Die ursprünglich durch einen weiteren Verbundpartner vorgesehene Entwicklung/Änderung der Geräte-/Prozessorwicklung wurde von der FRIZ übernommen, Unteraufträge dazu wurden an den ursprünglichen Partner Schumacher Elektromechanik GmbH und dessen früheren Unterauftragnehmer Fa. Kodeda vergeben.
- (ii) Im April 2022 wurde eine kostenneutrale Verlängerung des Vorhabens auf 50 Monate beantragt. Ursächlich für die beantragte Projektverlängerung waren pandemiebedingte Verzögerungen in einzelnen Arbeitspaketen. So verzögerte sich die Konzeption und Entwicklung eines vereinfachten Back-Ends (Kartusche; AP III.1) aufgrund verspäteter Lieferung(en) bei den verwendeten Rohmaterialien (v.a. Chips). Ein Herstellerwechsel wurde intern diskutiert, als Lösungsansatz aber verworfen. Zum einen, da die Lieferverzögerungen nicht herstellerbezogen waren, sondern die Branche betrafen, zum anderen, da die Kartuscheneinheit der CYCLE® Plattform-Technologie in mehrjähriger Arbeit von FRIZ Biochem, beginnend bei TLR 1, entwickelt wurde. Eine Herstellerwechsel, hätte mit hoher Wahrscheinlichkeit Änderungen im Design nach sich gezogen und wäre mit nicht unerheblichen Kosten sowie einem unklaren zeitlichen Horizont verbunden gewesen. Dies hätte das Vorhabenziel unnötigerweise weiter verzögern. Als direkte Folge konnten auch die anschließende Übertragung der initialen TB PCR-Assay(s) auf die PoC-CYCLE® Technologie (AP II.1-4), erst verspätet begonnen werden.

Die initiale zeitliche Aufteilung der Arbeitspakete (Abbildung 1) und der weitere zeitliche Ablauf des Vorhabens (Abbildung 2) über dem gesamtem Förderzeitraum hinweg sind in nachfolgendem Gantt-Charts dargestellt.

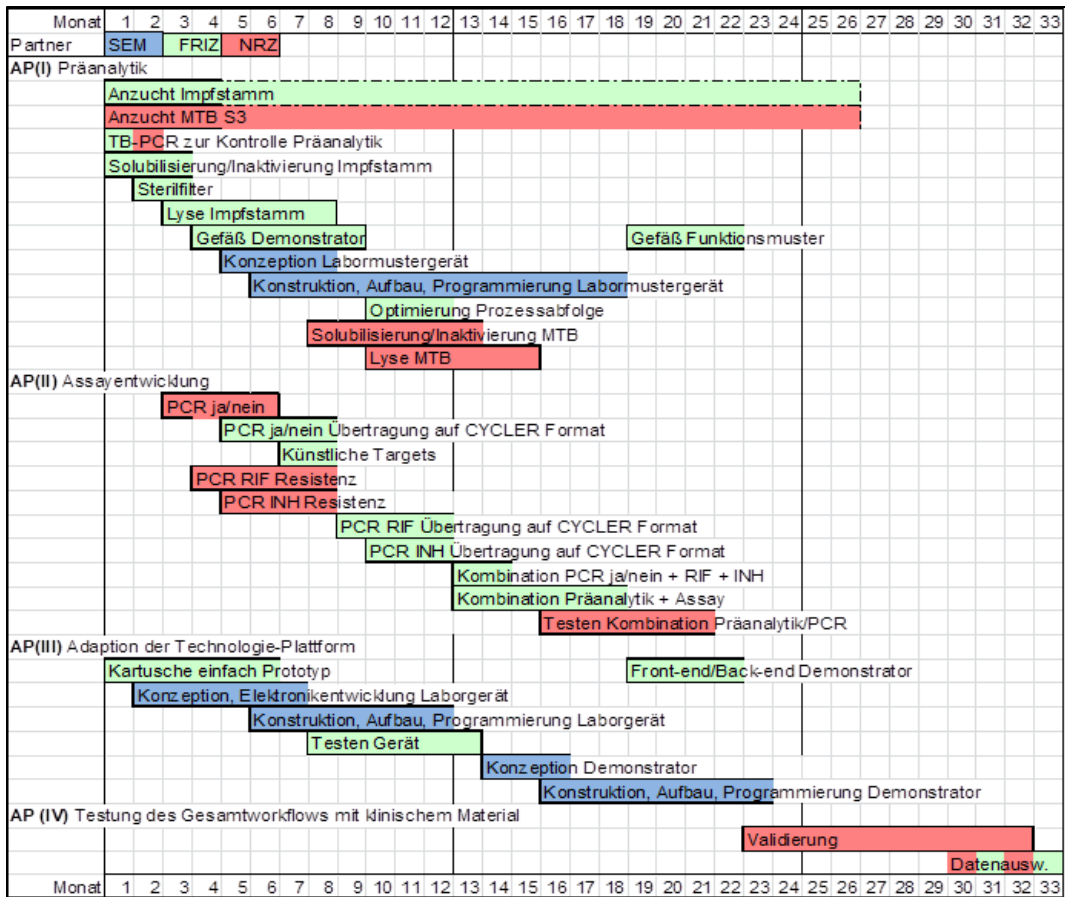


Abbildung 1: Gantt Chart MDx-TB zum Zeitpunkt der Antragstellung mit drei Verbundpartnern

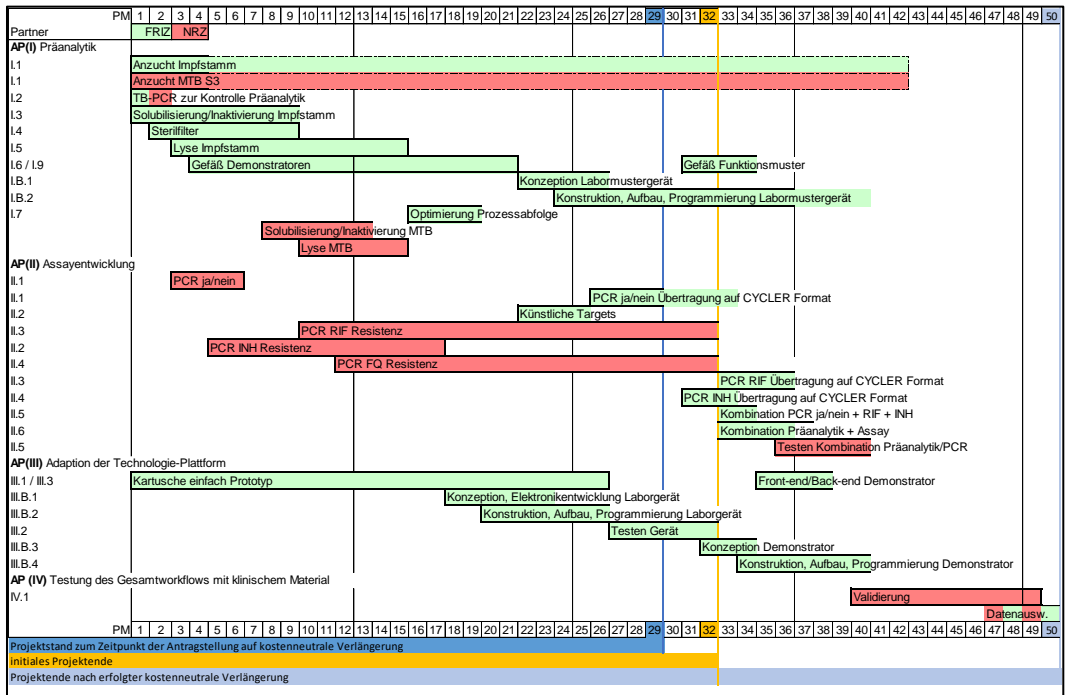


Abbildung 2: Gantt-Chart des Vorhabens MDx-TB mit zwei Verbundpartnern zum Zeitpunkt der kostenneutralen Verlängerung

2.3 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Zum Zeitpunkt der Antragsstellung galt die kulturelle Anzucht von MTBK aufgrund ihrer hohen Sensitivität als Goldstandard in der TB-Diagnostik. Neben der Kultur sollte dabei stets auch eine mikroskopische Untersuchung auf Mykobakterien („säurefeste Stäbchen“) erfolgen, da die Ansteckungsfähigkeit eines Patienten mit Lungen-TB mit der Menge an mikroskopisch sichtbaren Bakterien im Patientenmaterial korreliert.

Für die Kultur ist eine Vorbehandlung der Patientenproben, üblicherweise mit N-Acetyl-L-Cystein-NaOH, erforderlich, die das Probenmaterial (meist zähflüssiges Sputum) verflüssigt und die sonstige bakterielle Flora weitestgehend abtötet. Nach Erregeranreicherung durch Zentrifugation (Risikofaktor für Laborzwischenfälle) wird das Sediment auf zwei Fest- und ein Flüssignährmedium angeimpft. Die Anzucht in Flüssignährmedien, global marktdominierend war/ist das BACTEC™ MGIT™ 960 System der Firma Beckton Dickinson, trug dazu bei, die Bebrütungszeit positiver Kulturen auf etwa zwei Wochen zu verkürzen und die Sensitivität auf ca. 10 Bakterien / mL zu steigern (Festkultur ca. 10², Mikroskopie ca. 10⁴ Bakterien / mL). Die Erregeridentifikation aus positiven Kulturen (MTBK, atypische humanpathogene Mykobakterien wie Mycobacterium avium, nicht-pathogene Mykobakterien) erfolgte molekularbiologisch auf Basis Spezies-spezifischer DNA-Sequenzen des 16S rRNA Gens sowie weiterer Loci wie z.B. rpoB und hsp65. Dies wurde über Kombinationen aus Einzel-PCRs und klassischer Sanger DNA-Sequenzierung oder - in den meisten Laboratorien - über Streifenhybridisierungstests umgesetzt werden. Bei einem positiven Erstrnachweis von MTBK eine phänotypische Resistenztestung durchgeführt, die etwa weitere 2 Wochen dauert. Auch hierfür kam/kommt i.d.R. das teilautomatische MGIT™ 960 System zum Einsatz.

Neben der Mikroskopie und der Kultur hat sich in den vergangenen 20 Jahren der molekular diagnostische PCR-basierte Direktnachweis aus Patientenproben etabliert, welcher bislang weitestgehend auf hochausgestattete Zentrallabore angewiesen ist. Als Technologievertreter sind hier die Firmen Hain Lifescience, als Hersteller von Streifenhybridisierungstests, sowie Cepheid, als Hersteller des kartuschenbasierten GeneXpert PoC Testsystems, zu nennen. Das GeneXpert System von Cepheid ermöglicht zwar teilautomatisierte Point-of-Care TB-Diagnostik, kann allerdings nur von geschultem Personal in Laborumgebung bedient werden, da eine Manipulation an der geöffneten Patientenprobe und somit eine mikrobiologische Sicherheitswerkbank erforderlich ist. Zudem beinhaltet dieses Testsystem außer der Detektion von Rifampicin-resistenzvermittelnden Mutationen derzeit keine weiteren Resistenznachweise. Die Sensitivität und Spezifität des GeneXpert Systems zur Detektion von MTBK ist nicht zufriedenstellend (Sensitivität 63% bzw. 90%; Spezifität 93% bei vorbekannter Tuberkulose)¹. Die Durchführung sogenannter Streifenhybridisierungstests (z.B. GenoType MTBDRplus, Hain Lifescience GmbH) direkt aus Patientenproben verspricht zwar eine höhere diagnostische Sensitivität und Spezifität aus mikroskopisch negativen Proben (80.3% bzw. 98.4%) sowie die Möglichkeit weiterer Resistenznachweise (Isoniazid), stellt jedoch auch höhere Anforderungen an die Qualifikation des technischen Personals und an die Laborausstattung. Es ist somit nicht als Point-of-Care Test zu verstehen. Die Zeit bis zum Vorliegen des Testresultats beträgt zudem in der Regel mindestens einen Werktag, sodass auch nicht von einem Schnelltest gesprochen werden kann (GeneXpert: ca. 2 Stunden).

Zum Zeitpunkt der Antragstellung war der FRIZ keine Technologien bekannt, welche die im Vorhaben beschriebenen Vorteile einer vollautomatischen, molekular diagnostischen Point-of-Care Analyse zur TB-Diagnostik ermöglicht und vollständig ohne Laborumgebung durchgeführt werden kann.

2.4 Beschreibung der Ergebnisse

Überblick: Die Arbeitspakete des Teilprojekts, Teil I, (Präanalytik, Assayentwicklung, Adaption der Technologieplattform) war in mehrere Arbeitsschritte unterteilt, um die Komplexität der zu bewältigenden Problemstellungen zu reduzieren und ein transparentes Monitoring des Projektfortschritts sicherzustellen. Für die Entwicklung des Frontend (Präanalytik-System) wurde im Teilprojekt mit dem Impfstamm (*M. bovis* BCG) gearbeitet, um aufwändige Arbeitsschritte in einem Labor der biologischen Sicherheitsstufe 3 zu umgehen. Bis zur Realisierung eines Demonstrators für das Präanalytikgefäß wurden Vorversuche zu Inaktivierung, Isolierung und Lyse des Impfstamms, sowie Solubilisierung und selektiver Lyse des Probenmaterials unter Verwendung von künstlichem Sputum durchgeführt und Ultraschall als zuverlässige Zellaufschlussmethode für Mykobakterien etabliert, eine Machbarkeitsstudie zur Realisierung eines Ultraschallmoduls am Fraunhofer IBMT beauftragt. Parallel wurde das Backend (Kartusche) optimiert, um den Anforderungen an kostengünstige Schnelldiagnostik gerecht zu werden. Sowohl für das Präanalytik-Probengefäß als auch für die Kartuschen wurden verschiedene Spritzgussfunktionsmuster realisiert sowie verschiedene Entwicklungsstufen von Frontend- und Backend-Komponenten getestet und optimiert. Die Arbeitspakete des Aufstockungsantrags (Teilprojekt, Teil II: Steuer-Geräteentwicklung zur Präanalytik, Assayrealisierung und damit einhergehende geräteseitige Adaption der Technologieplattform) wurden entsprechend verzahnt und ebenfalls in mehrere Arbeitsschritte unterteilt. Nachdem erste erfolgreiche Ergebnisse der Realtime-PCR vom Projektpartner NRZ für Mykobakterien vorlagen, wurden in diesem Teilvorhaben die vom NRZ erprobten Sonden und Primer auf die CYCLE® Technologie angepasst und validiert. Schließlich werden alle einzeln getesteten Komponenten zu einem Demonstrator-System zusammengefügt (Präanalytik-Gefäß, vereinfachte Kartusche, angepasste Geräte, entwickelter Assay) und mit dem Impfstamm oder reinen DNA-Proben validiert.

AP I Präanalytik

Die Zielsetzungen der vorgesehenen Teilarbeitspakete (vgl. Antrag/ Ganttchart, Abbildung 2)

- Aufzucht Impfstamm
- TB-PCR zur Kontrolle der Präanalytik
- Solubilisierung und Inaktivierung des Probenmaterials
- Vorversuche für die TB-Präanalytik: Sterilfilter
- Vorversuche für die TB-Präanalytik: Aufschlussverfahren
- Optimierung der Präanalytischen Prozessabfolge
- Automatisierung der Präanalytik
- Probengefäß Funktionsmuster
- Konzeption des Labormuster-Geräts
- Mechanische Konstruktion/Aufbau des Labormustergeräts, Anpassung eines Cyclers-Gerätes an die finale Kartusche (tube)
- Programmierung des Laboraufbaus

wurden vollständig erreicht: Der Impfstamm ist in Flüssig- und auf Festmedium kultivierbar und TB-DNA aus Impfstamm-Lysat kann erfolgreich durch qPCR nachgewiesen werden. Versuche mit künstlichem Sputum und Inaktivierungsreagenz zeigen, dass das Sputum ausreichend solubilisiert und das Wachstum der Mykobakterien erfolgreich inhibiert werden kann. Die solubilisierten und inaktivierten Bakterien werden zudem mit hoher Effizienz mittels Ultraschall lysiert und die DNA freigesetzt. Die Filtration noch intakter Mykobakterien ist möglich, der Filter hat keinen inhibitorischen Einfluss auf die anschließende qPCR-Reaktion. Die Konzeption und Umsetzung eines Probenbehälters ist abgeschlossen, Funktionsmuster liegen vor und die erfolgreiche Solubilisierung/Inaktivierung des künstlichen Sputums sowie die Isolierung und Aufschluss des Impfstamms in den jeweiligen Komponenten des Präanalytik-Systems konnte somit gezeigt werden. Die theoretische Zusammenführung der verschiedenen Komponenten (Probenbehälter/Aufschlussmodul, angepasste Kartusche (back-end), vgl. Auch AP III, Anpassung des front-ends/Geräts) in ein Labormuster-Gesamtechnologie wurde abgeschlossen.

AP II Assayentwicklung

Die Zielsetzungen der vorgesehenen Teilarbeitspakete (vgl. Antrag/ Ganttchart, Abbildung 2)

- PCR TB ja/nein Übertragung auf CYCYLE® CYCLER Format
- Design und Synthese künstliche Targets
- PCR Rifampicin Übertragung auf CYCYLE® Format
- PCR Isoniazid Übertragung auf CYCYLE® Format
- Kombination der TB ja/nein, RIF und INH Assays
- Kombination Präanalytik mit dem CYCYLE® TB Assay

wurden prinzipiell und so weit entsprechende Assayvalidierungen des NRZs vorlagen erreicht: Assays für den PCR-Laborvergleichsnachweis zur Differenzierung TB ja/nein sind realisiert. Versuche zur Übertragung des TB ja/nein Assays auf das CYCYLE® Format verliefen erfolgreich. Verschiedene Assays für den Nachweis der INH-/ und RIF-Resistenz werden entwickelt und getestet. Da vom NRZ keine validierten Assays zur Resistenztestung Isoniazid und Rifampizin übernommen werden konnten, wurden diese in Eigenregie entwickelt und erfolgreich validiert. Allerdings war im (schon verlängerten Vorhabenszeitraum nicht mehr möglich, diese auf die CYCYLE® Technologie zu übertragen. Allerdings wurde die Assayentwicklung um den Bereich eines TB ja/nein Nachweis aus Nasen-/Rachenabstrichproben ergänzt, um der dringend benötigten vereinfachten Diagnostik bei Kindern Rechnung zu tragen. Die Technologieplattform konnte also vollständig auf eine TB sample-to-result Technologie vorbereitet werden.

AP III Adaption der Technologieplattform

Die Zielsetzungen der vorgesehenen Teilarbeitspakete (vgl. Antrag/ Ganttchart, Abbildung 2)

- Konzeption einer vereinfachten Kartusche
- Testen des Geräts
- Testen des Demonstrator-Systems
- Konzeption Gerät
- Elektronik Gerät
- Konstruktion, Aufbau und Test des Geräts
- Softwareentwicklung zur gerätegesteuerten Assayführung

wurden vollständig erreicht: Das Redesign der Kartusche ist abgeschlossen und neue Chips mit gesteigerter Analysekapazität sind vorhanden. Diese Kartuschen werden erfolgreich auf prinzipielle Funktion getestet und anschließend auf vollständige Analysefähigkeit spezifiziert und validiert. Die Inaktivierung und der Aufschluss der Proben wurde erfolgreich etabliert. Diese wurde über Integration des Ultraschallmodus zur vereinfachten Lyse der Pathogene direkt im Point-of-Care Gerätes realisiert. Damit gelingt erstmalig eine TB-Diagnostik innerhalb eines geschlossenen Systems ohne Proben transfer. Die Konzeption und Konstruktion des Laborgerätes wurde mechanisch., elektromechanisch und softwaretechnisch umgesetzt und die Analyse-/Ablaufsoftware für den Assayavblauf etabliert. Die Konzeption des weiterentwickelten Gerätes ist abschlossen, ein Labormuster wist aufgebaut und erfolgreich getestet.

AP IV Validierung mit klinischem Material

Das AP IV (vgl. Antrag/ Ganttchart, Abbildung 2), die Validierung der Technologie mit klinischem Material konnte im Vorhabenszeitraum nicht mehr durchgeführt werden. Es war ohne direkte Beteiligung der FRIZ vorgesehen.

Zusammenfassung:

Die Umsetzung der Technologie in den Komponenten Gerät/processing unit (inklusive Ultraschall Probenvorbereitungsmodul), Kartusche/analysis unit und Probenbehälter/sampling unit):



Abbildung 3: Darstellung der CYCYCLE® Dx MDx-TB Technologie

2.5 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

0813 Material:

Die Kosten für Verbrauchsmaterialien bewegten sich im Rahmen der Vorkalkulation. Es handelte sich im Wesentlichen um Kleinteile (<2.000 €). Mittelentsperrungen wurden erfolgreich beantragt.

0823 FE-Fremdleistungen:

Die Kosten für Fremdleistungen wurden um mehr als 100% überschritten. Mittelentsperrungen wurden erfolgreich beantragt.

0837 Personalkosten:

Die Personalkosten bewegten sich im vorgegebenen Rahmen.

0838 Reisekosten:

Pandemiebedingt wurden die regelmäßigen Projekttreffen nicht vor Ort abgehalten, sondern digital realisiert. Die veranschlagten Reisekosten wurden daher nicht verwendet.

0847 Abschreibungen auf vorhabenspezifische Anlagen:

Keine Abweichungen zur Antragsstellung.

0850 sonstige unmittelbare Vorhabenkosten:

Die Kosten bewegten sich im vorgegebenen Rahmen.

2.6 Verwertbarkeit der Ergebnisse / Veröffentlichungen

Derzeit ist die Therapie der MDR-TB besonders nebenwirkungsreich, sowie kosten- und zeitintensiv^[1]. Durch die im Verbundprojekt angestrebte schnellere und präzisere Diagnostik von TB, einschließlich der Detektion von Rifampicin- und Isoniazid-Resistenzen, wird es in Zukunft möglich sein, die Therapie entscheidend zu verbessern. Ein schnelleres und besseres Design von Therapieregimen für Patienten mit multiresistenter oder Isoniazid-monoresistenter Tuberkulose aufgrund zusätzlicher in derzeit verfügbaren Testsystemen nicht erfasster Resistenzdeterminanten kann die Therapie der MDR-TB weniger nebenwirkungsreich, kürzer und damit deutlich kostengünstiger gestalten. Dies gilt nicht nur für strukturschwache Regionen in Entwicklungsländern, sondern auch in der WHO Euro-Region, aus der jede fünfte neu diagnostizierte MDR-Tuberkulose stammt^[2]. Eine kürzlich vom NRZ durchgeführte Studie^[3] ergab zudem, dass in Deutschland über 25% der befragten Labore keine molekulardiagnostischen Schnelltests für Tuberkulose und nichttuberkulöse Mykobakterien durchführen, obwohl dies von der deutschen MIQ^[4] empfohlen wird. Es gibt folglich auch in Deutschland einen deutlichen Bedarf für patientennahe, sensitive und spezifische TB-Diagnostik.

In Anbetracht der Größe des globalen Marktes und des breiten fachlichen und politischen Konsenses über die Notwendigkeit verbesserter TB-Diagnostik kann sich die Aufwendung in die Etablierung einer verbesserten TB-Schnelldiagnostik mit verbesserter Resistenzerkennung nicht wie vorgesehen, innerhalb von 2 bis 3 Jahren nach Markteinführung amortisieren, sondern erst mehr als 5 Jahre nach Markteinführung.

Dies ist vor allem dem Umstand geschuldet, dass der Weg bis zur (europäischen) Markteinführung mit erheblichen Schwierigkeiten und Risiken verbunden ist, die sich vor allem durch die mit der IVDR erforderlichen hohen regulatorischen Anforderungen ergeben. Die FRIZ wird versuchen die dazu erforderlichen Mittel einzuwerben und die Verwertung wie umzusetzen. Neben der Verwertung auf dem heimischen Markt soll auch die Anwendung in Ressourcen-schwachen Ländern vorangetrieben werden. Auch hier sind die Anforderungen an die analytischen und klinischen Leistungsnachweise deutlich gestiegen. Die FRIZ ist allerdings bereits im Kontakt mit NGOs, insbesondere FIND, um zumindest logistische Unterstützung für die spätere klinische Validierung zu erhalten.

Entgegen der Erwartung zur Antragsstellung werden aufgrund der zwischenzeitlichen erhöhten regulatorischen Anforderungen und der bisherigen Verzögerungen im Projekt die ersten Umsätze sowohl im Bereich low resource settings als auch innerhalb der EU frühestens ab 2026/2027 erzielt werden können.

2.7 Fortschritte Dritter auf dem Gebiet des Vorhabens

Die innovative Technologie ist durch mehrere, im Eigentum der FRIZ Biochem befindlichen Patente abgesichert. Der „freedom to operate“ ist weiterhin gegeben. Im Berichtszeitraum gab es keine Änderungen gegenüber der Antragstellung. Im Rahmen des Projektes wurden keine Schutzrechte neu angemeldet bzw. sind dem Antragsteller keine dem Projektergebnis entgegenstehende Schutzrechte bekannt geworden.

3. Teil III – Erfolgskontrollbericht

Der Erfolgskontrollbericht des Teilvorhabens wurde über die Plattform „profi-online“ digital eingereicht.

^[1] Emerging Infectious Diseases, Vol. 20, No. 5, May 2014

^[2] WHO Global Tuberculosis Report 2018

^[3] Maurer et al., IJTLD, The landscape of diagnostic mycobacteriology in Germany – challenges of decentralized care, submitted Nov. 2018

^[4] MIQ 05: Tuberkulose Mykobakteriose. Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik.