

Vom Labortisch zur Feldforschung: zwei Fallstudien kostengünstiger Diagnostik

Ashok A. Kumar, Jonathan W. Hennek, Barbara S. Smith, Shaileendra Kumar, Patrick Beattie, Sidhartha Jain, Jason P. Rolland, Thomas P. Stossel, Catherine Chunda-Liyoka und George M. Whitesides*

Stichwörter:

Feldstudien · Leberschäden ·
Point-of-Care-Diagnostik ·
Sichelzellanämie ·
Technologieübertragung



Die universitäre Forschung an Point-of-Care-Diagnostik für die globale Gesundheit verzeichnet ein stetes Wachstum, allerdings verlassen viele Testsysteme niemals das Labor. Prozesse, die die diagnostische Technologie vom Labor ins Feld überführen – Prozesse, mit deren Hilfe Betrieb und Leistungsvermögen unter realistischen Bedingungen evaluiert werden sollen –, sind komplizierter, als sie scheinen mögen. Zwei Fallstudien illustrieren diesen Prozess: die Entwicklung eines papierbasierten Testsystems zur Messung der Leberfunktion sowie die eines Testsystems zur Identifikation von Sichelzellanämie, das auf wässrigen, mehrphasigen Systemen sowie Unterschieden in der Dichte normaler und sichelförmiger Zellen beruht. Aus den Details der Entwicklung dieser beiden Testsysteme lassen sich allgemeingültige Strategien zum Aufbau von Kooperationen, zum Herstellen von Prototypen, zur Validierung, zum Design von Studien und zur Evaluation von Point-of-Care-Diagnostik ableiten. Die aus diesen Erfahrungen gezogenen (verfahrens)technischen Lehren können Wissenschaftlern nutzen, die diagnostische Tests für Entwicklungsländer und – allgemeiner – Technologien für den Einsatz bei begrenzten Ressourcen entwerfen.

1. Einleitung

Ein zentraler Aspekt von Lab-on-a-Chip-Technologien ist die Entwicklung patientennaher (Point-of-Care-, POC-)Diagnostik.^[1–3] Veröffentlichungen aus diesem Bereich verzeichnen einen exponentiellen Zuwachs (Abbildung 1). Trotz all dieser Aktivitäten bleibt das Versprechen von Testsystemen,

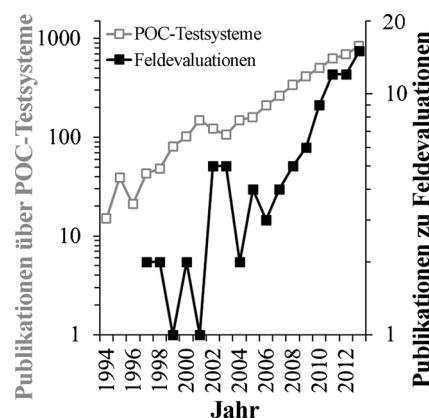


Abbildung 1. Die Zahl der Veröffentlichungen mit dem Thema Point-of-Care-Tests oder -Diagnose (Publikationen über POC-Testsysteme) sowie der Veröffentlichungen von Evaluationen solcher Testsysteme im Feld (Feldevaluationen) im klinischen oder ressourcenbegrenzten Umfeld ist während des letzten Jahrzehnts exponentiell gestiegen. Veröffentlichungen zu Testsystemen selbst sind 60-mal häufiger als Veröffentlichungen zur Evaluation der Testsysteme im Feld. Die Anzahl der Publikationen basiert auf einer Suche im Web of Science (Thomson-Reuter) mit den Suchbegriffen („point-of-care“ AND (diagnostic OR test)) für „Publications on POC Devices“ sowie den Suchbegriffen ((„point-of-care“ AND (diagnostic OR test)) AND („field trial“ OR „field evaluation“ OR „clinical evaluation“)) für „Publications on Field Evaluations“.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	5933
2. Ein Leitfaden für die Entwicklung	5934
3. Fallstudie 1: Leberfunktionstest	5940
4. Fallstudie 2: diagnostischer Test auf Sichelzellen	5944
5. Schlussfolgerungen und Empfehlungen	5949

die eine personalisierte und bezahlbare Gesundheitsversorgung ermöglichen sollen, zum großen Teil eben das: ein Versprechen.^[4,5] Wie muss man vorgehen, will man die Lücke schließen zwischen Publikationen über POC-Tests einerseits sowie vollständig entwickelten POC-Tests andererseits, die auch tatsächlich für die Verbesserung der medizinischen Versorgung eingesetzt werden?

Der Übergang von einem Laborkonzept zu einem praxistauglichen Produkt ist meist anspruchsvoll und teuer, ganz besonders in der Medizin. Sowohl große klinische Studien als auch komplexe behördliche Genehmigungsprozesse benötigen eine lange Zeit und erhebliche (finanzielle und mensch-

[*] Dr. A. A. Kumar, Dr. J. W. Hennek, Dr. B. S. Smith,

Prof. G. M. Whitesides

Department of Chemistry and Chemical Biology

Harvard University

12 Oxford St., Cambridge, MA 02138 (USA)

E-Mail: gwhitesides@gmwgroup.harvard.edu

Dr. S. Kumar, P. Beattie, S. Jain, Dr. J. P. Rolland

Diagnostics for All

840 Memorial Drive, Cambridge, MA 02139 (USA)

Dr. T. P. Stossel

Hematology Division and Center for Biomedical Innovation

Brigham and Women's Hospital

One Blackfan Circle, Boston, MA, 02115 (USA)

Dr. C. Chunda-Liyoka

Department of Paediatrics, University Teaching Hospital

Nationalist Rd., Lusaka (Sambia)

Prof. G. M. Whitesides

Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering

Harvard University

60 Oxford St., Cambridge, MA 02138 (USA)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter

<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201411741> zu finden.

liche) Ressourcen. In einem ersten von vielen Schritten muss ein POC-Test vom Labor in die Feldstudie überführt werden.

An Universitäten hört man zuweilen, dass sich akademische Wissenschaftler besser nur mit dem Entdecken neuer Methoden und dem Ermöglichen neuer Technologien beschäftigen, aber die eigentliche Umsetzung in die Praxis, inklusive Feldstudien, Firmen überlassen sollten. Dies funktioniert (wenn auch nicht perfekt), wenn potenzielle Gewinne groß und Risiken klein sind. Unter diesen Umständen werden Marktkräfte Firmen manchmal dazu bringen, in die komplette Entwicklung von Technologien im Frühstadium zu investieren. Technologien, die das untere Ende der Pyramide anvisieren,^[6] passen jedoch nicht in dieses ökonomische Modell, da sie oft nur einen begrenzten finanziellen Anreiz und zugleich ein hohes Risiko des Scheiterns bei der beabsichtigten Anwendung (oft aus Gründen, die wenig mit den Technologien selbst zu tun haben) mit sich bringen.

Wenn Wissenschaftler und Ingenieure ihre eigenen ersten Feldevaluationen durchführen, können sie ihre Technologien verbessern, die Kosten für die zukünftige Entwicklung verringern und zum Tätigen der für eine Realisierung nötigen, zusätzlichen Investitionen motivieren. Dieser Übergang ist anspruchsvoll, da er Fähigkeiten und Erfahrungen benötigt, die – anders als z.B. im Gesundheitswesen – in chemischen, biologischen und bioingenieurwissenschaftlichen Fakultäten, wo viele der Forschungen im Bereich der POC-Diagnostik durchgeführt wurden, selten anzutreffen sind.

Publikationen zu Feldstudien und der klinischen Evaluation von POC-Testsystmen verdeutlichen die Schwierigkeiten, die ein Transfer vom Labortisch zum Feldversuch mit sich bringt. Jedes Jahr wird pro sechzig Publikationen zu Testsystmen für die POC-Diagnostik (weltweit) nur eine Arbeit zu Feldtests oder zur klinischen Evaluation von POC-Testsystmen veröffentlicht. Dieses Verhältnis ist in den letzten beiden Jahrzehnten relativ konstant geblieben (Abbildung 1). Wir wollen hier von unseren Erfahrungen mit zwei repräsentativen Technologien berichten, in der Hoffnung, dieses Verhältnis zu verringern, indem wir die – zwar weniger wissenschaftlichen, dafür aber umso interessanteren und anspruchsvoller – (verfahrens)technischen Aufgaben schildern, die es zu überwinden gilt, um von Publikationen schließlich zu einem im Feld getesteten Prototypen zu gelangen.

Hier beschreiben wir einen allgemeinen Leitfaden für die Entwicklung von POC-Diagnostik und illustrieren ihn anhand zweier Fallstudien. In den letzten sieben Jahren haben



George M. Whitesides studierte an der Harvard University (BA 1960) und promovierte 1964 am California Institute of Technology (bei J. D. Roberts). Er begann seine unabhängige Karriere am MIT und ist heute Woodford L. and Ann A. Flowers University Professor an der Harvard University. Seine derzeitigen Forschungsinteressen umfassen: physikalische und organische Chemie, Materialwissenschaften, Biophysik, Wasser, Selbstorganisation, Komplexität und Simplizität, Ursprung des Lebens, dissipative Systeme, preiswerte Diagnostik und Robotik.

wir zwei Technologien vom Labortisch ins Feld überführt: 1) Wir nutzten papierbasierte Mikrofluidik^[7] für einen Leberfunktionstest^[8,9] und evaluieren das Testsystem in einer Feldstudie in einem Krankenhaus in Vietnam.^[10] 2) Wir entwickelten sich selbst bildende, stufenförmige Dichtegradienten^[11] für einen Test auf Sichelzellanämie^[12] und evaluieren diesen Test in einer klinischen Umgebung in Sambia.^[13] (In beiden Fällen haben wir noch keine behördliche Zulassung erhalten oder ein fertiges Produkt entwickelt.) Im einen Fall wurden die Entwicklung und Feldtests im Rahmen einer engen Partnerschaft mit einer gemeinnützigen Firma durchgeführt, im anderen leitete unser Labor die Studien. Wir hoffen, dass Forscher, die an der Herstellung von POC-Testsystmen interessiert sind, von unseren Erkenntnissen profitieren und einige der Hürden erkennen werden, die mit der Entwicklung und mit Feldtests neuer, praxistauglicher Technologien verbunden sind.

1.1. Was ist eine Feldstudie?

Ein Wissenschaftler, der eine neue Methode entwickelt hat, um eine Krankheit mit einem einfachen, tragbaren Testsystem zu diagnostizieren, mag glauben, die beste Art für einen Feldtest des Testsystems sei es, zu ländlichen Kliniken in Ländern mit niedrigem und mittlerem Durchschnittseinkommen (NMELs) zu reisen und anzufangen, das Testsystem bei Patienten einzusetzen. Wenn das Testsystem für den POC entworfen wurde, sollte der POC nicht der beste Ort für eine Prüfung des Testsystems sein? Die Leistungsprüfung des Testsystems am POC ist essenziell, aber nicht notwendigerweise die erste Arbeit, die im Feld durchgeführt werden sollte.

„Feldstudie“ und allgemeiner „Feldforschung“ beziehen sich auf ein breites Spektrum von Aktivitäten (Abbildung 2). Feldforschung kann in vier Stufen unterteilt werden:

- 1) Bedarf: ein Problem identifizieren und seinen Kontext verstehen
- 2) Evaluation: den Prototypen eines Testsystems im Feld testen, um Probleme zu identifizieren
- 3) Validierung: die klinische Leistungsfähigkeit in einer Feldsituation demonstrieren
- 4) Wirksamkeit: testen, ob die Verwendung des Testsystems einen Einfluss auf die Gesundheit hat

Die beiden hier diskutierten Fälle befanden sich zwischen Stufe 2 und 3, als sie im Feld evaluiert wurden. In beiden Fällen begann die Feldforschung jedoch bereits viel früher und schloss die Beurteilung des Bedarfs und die Bewertung von Designs mit möglichen Endnutzern ein.

2. Ein Leitfaden für die Entwicklung

2.1. Definieren eines Problems

Eine erfolgreiche Technologie muss ein echtes Problem lösen. Damit eine Diagnosemethode eine Wirkung auf die globale Gesundheit zeigt, sollte das Problem, zu dessen

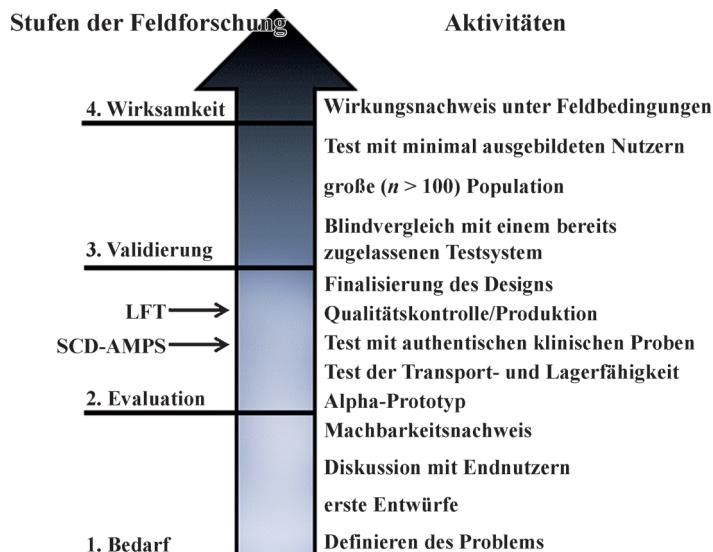


Abbildung 2. Das Spektrum der Feldforschung reicht über vier Stufen. Ausgehend von einer ersten Beurteilung des Bedarfs erfordern die weiteren Aktivitäten und Meilensteine, die ein Testsystem durchlaufen muss, immer längere Zeit und ansteigende Ressourcen. Feldstudien einer POC-Diagnosemethode für NMELs können sich auf das Testen in NMELs irgendwo oberhalb von Stufe 2 beziehen. Feldstudien für den papierbasierten Leberfunktions-Test (LFT) und der Test auf Sichelzellanämie (Sickle Cell Disease, SCD) mithilfe wässriger, mehrphasiger Systeme (SCD-AMPS) wurden zwischen Stufe 2 und 3 durchgeführt.

Lösung das Testsystem gedacht ist, nach unserer Erfahrung und laut Übersichtsartikeln zur POC-Diagnostik^[1,3,14,15] im Allgemeinen vier Eigenschaften aufweisen:

- 1) Eine bedeutende Zahl von Menschen sollte von der Krankheit betroffen sein, damit das Forschungsprogramm eine angemessene Aufmerksamkeit von Geldgebern, Nichtregierungsorganisationen (NGOs) und Regierungen auf sich zieht. Dies bedeutet, die Krankheit sollte letztlich so wichtig sein, dass eine Organisation, die sich ihrer Behandlung widmet, bereit ist, sich an der Entwicklung einer Lösung zu beteiligen (und dafür zu zahlen).^[16]
- 2) Die diagnostischen Testsysteme sollten nutzbare Informationen liefern, die das Wohlbefinden des Patienten verbessern.
- 3) Einfache Maßnahmen zur Behandlung des Patienten sollten bereits vorhanden sein oder – bei nicht behandelbaren Krankheiten (z.B. Denguefieber oder, über die symptomatische Behandlung hinaus, Ebola) – Interventionsmöglichkeiten zum Schutz und zur Verbesserung der öffentlichen Gesundheit aufzeigen, sobald eine Diagnose gestellt wurde.
- 4) Vorhandene Lösungen für das Problem sollten unzulänglich oder unbezahlbar sein.

Das letzte Kriterium ist besonders wichtig, wenn das Ziel letztlich darin besteht, ein nützliches Produkt zu entwickeln. Die Analyse des Markts auf vorhandene Lösungen bietet Hinweise auf das Leistungsniveau, das es zu übertreffen gilt, um einen wesentlichen Unterschied zu machen.

Um Bedarfslagen und wesentliche Probleme im Bereich der globalen Gesundheit zu identifizieren, bieten Berichte

der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und die neueste Liste der Grand Challenges der Bill and Melinda Gates Foundation (BMGF) nur einen Ausgangspunkt. Beide Organisationen führen umfangreiche Nachforschungen vor Ort durch, allerdings vernachlässigen ihre Listen die Details – und bei POC-Anwendungen steckt der Teufel im Detail.

Um die durch Technologie lösbaren Probleme in einem Umfeld mit begrenzten Ressourcen besser zu verstehen, ist Erfahrung vor Ort notwendig – sei es in ländlichen Gebieten in Afrika, städtischen Slums in Indien oder bei einer Militäreinheit an der Front. Sind diese Erfahrungen nicht direkt in einem Universitätslabor vorhanden, ist es von unschätzbarem Wert, Partner zu finden, die diese Probleme verstehen und sie im Kontext technischer Herausforderungen erklären können.

2.2. Aufbauen eines Teams

Die Bildung eines interdisziplinären, globalen Teams erfordert kaum mehr als die Suche nach möglichen Partnern, das Teilen von Ideen und die Wertschätzung dessen, was jedes Mitglied in die Diskussion einbringt. Für Wissenschaftler und Ingenieure an Hochschulen bietet die Teilnahme an medizinischen Symposien oder der E-Mail-Austausch mit Ärzten und Forschern an lokalen Krankenhäusern oder nahe gelegenen Schulen für öffentliche Gesundheit einen einfachen Weg, Partner zu finden.

Oft kann man internationale Kooperationen initiieren, ohne in ein Flugzeug steigen zu müssen. In den USA und Europa haben viele Krankenhäuser und medizinische Fakultäten Ärzte, die in NMELs gearbeitet haben. Viele dieser Ärzte arbeiten mit NGOs zusammen, die eine Ressource für die Durchführung von Studien sein können. In Entwicklungsländern können Gesundheitsministerien und lokale NGOs wertvolle Partner sein.

Gegenseitiges Vertrauen und Verständnis sind wichtige Aspekte jeder Partnerschaft, besonders aber bei internationalen Kooperationen. Online-Gemeinschaften und Foren wie Global Health Delivery Online (<http://www.ghdonline.org>) und Engineering for Change (<http://www.Engineeringforchange.org>) erleichtern das Kennenlernen potenzieller Partner, aber eine gute, funktionierende Partnerschaft baut man am besten persönlich auf. Es gibt jedes Jahr eine Vielzahl von internationalen Konferenzen und Workshops zur POC-Diagnostik. Universitäten bieten auch Kurse an, die Studenten und Professoren ins Ausland führen, um mit verschiedenen Organisationen Feldstudien zu betreiben. Von diesen Möglichkeiten Gebrauch zu machen, kann zu Partnerschaften und neuen Forschungsprogrammen führen. Sich mit Organisationen, die Erfahrung in der Feldforschung haben, zusammenzutun, ist eine andere Möglichkeit. Tabelle 1 listet mehrere Organisationen und Ressourcen für die Etablierung von Partnerschaften auf.

Tabelle 1: Auflistung möglicher Partnerorganisationen mit globaler Ausrichtung.

Organisation	Typ	Sitz	beteiligte Länder	Erfahrung in der Diagnostik-entwicklung
Bill and Melinda Gates Foundation (BMGF)	NGO	Seattle, WA, USA	> 100	ja
Center for Emerging & Neglected Diseases (CEND)	Universitätszentrum	Berkeley, CA, USA	weltweit	ja
Center for Integration of Medical Innovation and Technology (CIMIT) & Center for Global Health (CGH)	Konsortium	Boston, MA, USA	> 20	ja
Clinton Health Access Initiative (CHAI)	Stiftung	Boston, MA, USA	> 25	ja
D-Lab (MIT)	Universitätszentrum	Cambridge, MA, USA	> 20	ja
Engineers for a Sustainable World (ESW)	Netzwerk	Pittsburgh, PA, USA	> 9	
Engineers Without Borders (EWB)	Netzwerk	Denver, CO, USA	> 47	
Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND)	NGO	Genf, Schweiz	> 60	ja
Global Scientific Solutions for Health, Inc. (GSSHealth)	Berater	MD, USA	> 15 (Afrika und Asien)	ja
John Snowe Inc.	Berater	Boston, MA, USA	> 75	ja
Médecins Sans Frontières (MSF)	NGO	Genf, Schweiz	weltweit	
National Center for the Advancement of Translational Science (NCATS-NIH)	Regierungsinstitut	Bethesda, MD, USA	weltweit	ja
National School of Tropical Medicine (Baylor)	Universitätszentrum	Waco, TX, USA	> 7	
Partners in Health (PIH)	NGO	Boston, MA, USA	> 12	
Program for Appropriate Technologies in Health (PATH)	NGO	Seattle, WA, USA	> 70	ja
Sandra Rotman Centre (University of Toronto)	Universitätszentrum	Toronto, ON, Canada	weltweit	ja
Stanford Biodesign & Center for Innovation in Global Health (Stanford)	Universitätszentrum	Stanford, CA, USA	weltweit	ja
U.S. Agency for International Development (USAID)	Regierungsagentur	Washington, DC, USA	> 100	ja

2.3. Überlegungen zum Design eines diagnostischen Testsystems

Ein wohldefiniertes Problem hat spezifische Randbedingungen, die von seinen Lösungen eingehalten werden müssen. Die ASSURED-Kriterien (affordable, sensitive, specific, user-friendly, robust, equipment-free, delivered), die von der WHO entwickelt wurden,^[17] bieten einen groben Leitfaden und eine Check-Liste für das Design von POC-Testsystemen, sollten aber im speziellen Kontext, in dessen Rahmen sie entwickelt wurden, verstanden werden: Kriterien für Schnelltests von sexuell übertragbaren Infektionen in einer Welt vor den mittlerweile allgegenwärtigen Mobiltelefonen, in der zudem weniger Elektrizität zur Verfügung stand, als sie (an vielen Orten) heute verfügbar ist. Diese Kriterien sind wichtig, aber sie sind Richtlinien und kein Ersatz für Abwägungen und Anforderungen, die für jede Krankheit spezifisch sind.^[1] Manche Probleme erfordern quantitative Messungen, andere nur Ja/Nein-Antworten. In manchen Fällen können die ASSURED-Kriterien zu sehr einschränken; z.B. gilt „equipment-free“ in ASSURED unter Umständen nicht für Testsysteme zur Verwendung in einem Bezirkskrankenhaus, das kleine Gerätschaften betreiben kann. Ähnlich kann ein Mobiltelefon als Ausrüstungsgegenstand gelten, aber heute sind einfache Mobiltelefone weit verbreitet, sogar in vielen abgelegenen Dörfern. (Fortgeschrittenere Mobiltelefone, wie sie heute oft zur Verwendung in ressourcenbeschränkten POC-Anwendungen vorgeschlagen werden, sind oft nicht verfügbar.)^[18]

Entwickler von POC-Technologien können die Standorte besuchen, an denen ihre Testsysteme genutzt werden sollen, oder sie können im Rahmen internationaler Kooperationen mit Personen aus dem klinischen Bereich zusammenarbeiten,

um mehr über den genauen Kontext ihres diagnostischen Ziels zu erfahren.^[19,20] Die Entwicklung eines Testsystems unter Berücksichtigung des spezifischen Kontexts und der exakten Problemstellung vermeidet unnötige Einschränkungen, während zugleich Limitierungen, die entscheidend für den Erfolg einer Feldevaluation sind, Rechnung getragen wird. Zum Beispiel werden die mögliche Zeitspanne für eine Untersuchung und die Frage, ob Tests individuell oder in Gruppen durchgeführt werden, vom täglichen Arbeitsablauf des Endnutzers abhängen. Wichtig ist außerdem zu verstehen, wie Endnutzer üblicherweise ihre Medizinprodukte beziehen, wohin Patienten für Tests verwiesen werden, die nicht am POC verfügbar sind, wie Behandlungsunterlagen aufbewahrt werden, welche Infrastruktur vorhanden ist (z.B. Telekommunikation, Wasser, Elektrizität) und wieviel Zeit das Krankenhauspersonal jedem Patienten widmet.

Außer dem Kontext, in dem ein Testsystem eingesetzt wird, ist auch wichtig, bereits früh das patentrechtliche Umfeld einer POC-Diagnosemethode zu bedenken. Mit der Literatursuche sollte bei der Forschung zur Entwicklung praktischer Technologien auch eine Beurteilung der Freiheit, eine Idee zu entwickeln und zu kommerzialisieren, ohne dabei das geistige Eigentum anderer zu verletzen, einhergehen. Wenn man an Technologien für NMELs arbeitet, mag eine solche Handlungsfreiheit weniger klar als in den USA oder in Europa definiert sein. Trotzdem haben wir für beide diskutierten Anwendungen Patente angemeldet, 1) um das Finden kommerzieller Partner für die Entwicklung von Produkten für nichtkompetitive, entwickelte Märkte zu erleichtern,^[21] 2) um eine defensive Strategie zur Erhaltung unserer Handlungsfreiheit verfügbar zu haben^[22,23] und 3) um ein Werkzeug zur Kreuzlizenenzierung zu erhalten, das unseren

Zugang zum geistigen Eigentum Dritter vereinfacht.^[22] Da es teuer ist, geistiges Eigentum zu erwerben und zu behalten, und da es wegen der Art von Technologie, die wir entwickeln möchten, in der Tat ein gutes Resultat wäre, dass sie kopiert wird und von dritten Parteien in den NMELs entwickelt wird, ist die jeweils beste Patentstrategie nicht immer genau definiert.

2.4. Finanzierung

Die Finanzierung von Feldstudien ist eine Herausforderung: Diese Aktivitäten fallen in die Wüstenlandschaft zwischen traditioneller, akademischer Forschung und kommerzieller Entwicklung. Ein erster Schritt ist, die Kosten zu verstehen. Je nach Größe und Umfang der Feldevaluation können die Kosten von 15 000 \$ (z.B. ein einwöchiges Programm in einer ländlichen Umgebung, um Rückmeldungen von Endnutzern zu erhalten) bis über 100 000 \$ (z.B. eine sechsmonatige klinische Bewertung der Leistungsfähigkeit an mehreren hundert Testpersonen) reichen. Eine ehrliche und offene Beziehung mit den internationalen Partnern ist notwendig, um Kosten für Personal, Ausrüstung und lokale Transporte genau abschätzen zu können. Das Team kann dann den Feldtest in Anträge auf Finanzierung durch Förderorganisationen, wie die NIH (USA) und die Europäische Kommission, oder Stiftungen, wie die BMGF oder The Wellcome Trust, mit einbeziehen.

Viele Einrichtungen und gemeinnützige Organisationen bieten „Beschleunigungs-“ oder „Umsetzungsförderungen“, die eine Technologie in einer Art positionieren sollen, die es einfacher macht, finanzielle Förderung durch Firmen und Risikokapitalgeber zu erhalten. Auch Design- oder Innovationswettbewerbe können zu Geld, zu fruchtbarem Austausch mit anderen Forschern auf dem Gebiet sowie zu geeigneten Mechanismen für den Teamaufbau führen.

Finanzielle Förderung kann auch durch NMELs gewährt werden, die an Technologien zum Wohl ihrer Bürger interessiert sind. Selbst wenn kein Geld verfügbar ist, können Sachleistungen – wie der Zugang zu klinischen Labors oder die Unterbringung in Wohnheimen – die von externen Quellen benötigten Geldmittel reduzieren. Spenden können die Kosten von Feldevaluationen weiter verringern; Firmen, die Labor- und Medizinprodukte herstellen, sind manchmal bereit, Hilfsmaterial zu spenden, wenn dies einen möglichen Nutzen für die Bevölkerung bringt.

2.5. Wann ist ein Testsystem bereit für die Feldforschung?

Idealerweise möchte man ein Testsystem während des gesamten Spektrums von Entwicklung und Feldtests früh und oft im Feld prüfen (Abbildung 2),^[24] die zeitlichen und finanziellen Beschränkungen erfordern jedoch einen vernünftigeren Einsatz von Ressourcen. Viel Vorarbeit kann im Labor oder mit Krankenhäusern in entwickelten Ländern geleistet werden. Der Entwicklungsstand, den ein Testsystem vor dem Feldtest erreichen muss, hängt von der jeweiligen Problemstellung und den Zielen der Feldforschung ab. Wie

kann man beurteilen, ob sich ein Testsystem in einer Phase der Entwicklung befindet, die von einer Feldevaluation profitieren würde?

Die Feldevaluation eines Prototyps (zwischen Stufe 2 und 3) kann die entscheidenden Schwächen des Testsystems schnell aufdecken. Der Einfluss von Umweltbedingungen (z.B. Temperatur und Luftfeuchtigkeit), Variationen bei biologischen Proben (z.B. Testen von authentischen Proben anstelle von Surrogaten) und Probleme bei der Verwendung oder Interpretation sind alles wesentliche Punkte, die identifiziert werden können. Diese Art von Studien kann kurz (weniger als ein Monat) sein und benötigt eine kleinere Zahl ($n \approx 30$) von Testpersonen als eine höherstufige Feldstudie, da bei ersterer Studienform das Ziel darin besteht, kritische Probleme des Testsystems und nicht subtile Einflüsse zu identifizieren.

Auch wenn man ein Scheitern bis zu einem gewissen Grad erwarten mag, ist doch ein hohes Maß an Vertrauen in das Testsystem notwendig, um sich für eine Feldevaluation zu entscheiden. Ein Machbarkeitsnachweis – die Demonstration, dass das Testsystem in einer Laborumgebung unter Verwendung von klinisch relevanten Proben oder von Surrogaten (z.B. Antigen-versetztes Serum) funktioniert – vermittelt ein gewisses Maß an Vertrauen, dass das Testsystem, eine richtige Umgebung und geeignete Bedingungen vorausgesetzt, funktionieren sollte. Obwohl eine erste Validierung anhand von 30 oder mehr Proben erstrebenswert ist, um eine statistische Aussagekraft zu gewährleisten,^[25] kann eine kleinere Probenzahl je nach der Größe des zu messenden Effekts und der benötigten Empfindlichkeit immer noch Vertrauen in ein Resultat geben. Als Minimum sollte man jedoch nicht weniger als sieben unabhängige Proben verwenden.^[25]

Es ist wichtig sicherzugehen, dass Experimente mit Surrogatproben unabhängig und nicht einfach Replikate sind;^[26,27] z.B. würde das Versetzen von Aliquots von Plasma derselben Probe mit verschiedenen Mengen an Antigenen nicht die gleiche Hintergrundvariation bieten wie das Zusetzen von Antigenen zu Plasma aus verschiedenen Proben. Beim Einsatz von Surrogatproben ist es wichtig zu verstehen, welche Einschränkungen das Surrogat für den Test, den das Testsystem durchführt, mit sich bringt. Eine Probe, die für eine Feldprobe repräsentativ ist, bietet den besten Prüfstein für das Testsystem. Ein allein auf Grundlage von Blut aus einer Venenpunktion entwickeltes und geprüftes Testsystem kann sich bei frischem Blut aus einem Fingereinstich anders verhalten. (Der Erhalt einer reproduzierbaren, qualitativ hochwertigen Probe aus einem Fingereinstich benötigt Sorgfalt und die richtige Technik, um eine Hämolyse oder den Einschluss großer Volumina von Gewebsflüssigkeit zu vermeiden.^[28])

Das Prüfen des Testsystems mit Nutzern, die nicht an seiner Entwicklung beteiligt waren, kann wichtige Informationen über das Design und die Bedienbarkeit des Testsystems liefern. Ein solcher Nutzer gibt nicht nur Rückmeldungen über die Nutzerfreundlichkeit des Tests, auch bietet ein Test durch einen unbedarften Nutzer eine realistischere Näherung an das wirkliche Leistungsvermögen als ein entsprechender Test durch die Entwickler. Bei unseren beiden Testsystemen wurden die meisten Tests vor der Feldforschung

unter Beteiligung durch die Entwickler durchgeführt. Wären unbeteiligte Nutzer in die Labortests einbezogen worden, hätten wir eventuell die Zeit für Pilotstudien reduzieren oder Verbesserungsmöglichkeiten identifizieren können, bevor die Testsysteme im Feld evaluiert wurden.

Testsysteme, die für eine binäre Ausgabe – d. h. „positiv“ oder „negativ“ – entworfen wurden, müssen empfindlich (in der Lage, positive Treffer zu detektieren) und spezifisch (in der Lage, eine Einstufung negativer als positive Treffer zu vermeiden) sein. Wird ein Grenzwert genutzt, um zu definieren, ob eine Messung als positiv oder negativ einzustufen ist, bietet eine Grenzwert-Optimierungskurve ein visuelles Hilfsmittel, um das Leistungsvermögen des Tests zu ermitteln.^[29] Wenn das Testsystem eine quantitative Detektion bietet, kann der Vergleich mit Messungen eines diagnostischen Standardtests mithilfe eines Bland-Altman-Diagramms mögliche systematische Abweichungen bei der Messung aufdecken.^[30]

Vertraut man erst einmal darauf, dass ein Testsystem in biologischer und technischer Hinsicht prinzipiell funktionieren kann, sollte man die weitere Entwicklungsarbeit auf die Verringerung von Störfaktoren konzentrieren. Bei der Vorbereitung von Feldevaluationen muss man Qualitätskontrollen entwickeln sowie geeignete Verpackungen, Lagerungsbedingungen und Versandmethoden identifizieren. Indem man Testsysteme verpackt und sie anschließend in einem Ofen oder bei hoher Luftfeuchtigkeit lagert, hat man einen schnellen Test für die Stabilität unter extremen Lagerungsbedingungen zur Hand. Wenn man mehrere Testsysteme verpackt und sie von einem Kurier mit Rücksendeservice verschickt, setzt man sie unterschiedlichen Versandbedingungen aus. Der Grad, zu dem all diese Faktoren verstanden und berücksichtigt werden, ist ausschlaggebend für das Maß an Vertrauen, dass ein Testsystem in einer klinischen Studie die erwartete Leistung bringen wird.

Die während dieser Phase vorgenommenen Feldevaluationen vor der Festlegung des endgültigen Designs bieten eine wichtige Gelegenheit, ein Testsystem anhand klinisch relevanter Proben zu testen und unerwartete Probleme aufzudecken, bevor eine Feldstudie auf dem Niveau der dritten Stufe der Feldforschung (Abbildung 2), z. B. eine Studie für eine behördliche Genehmigung, durchgeführt wird. Bei den Fallstudien in den Abschnitten 3 und 4 gab es unterschiedlich umfangreiche Qualitätskontrollen. Tabelle 2 gibt einen Vorschlag für einen Zeitplan zur Entwicklung und Feldevaluation.

Eine Feldstudie auf oder oberhalb der Stufe 3 erfordert großes Vertrauen in die Funktionsfähigkeit des Testsystems sowie ein festgelegtes Design (inklusive Verpa-

ckungs- und Lagerungsbedingungen). Voraussetzung für letzteres ist die Demonstration von diagnostischer Genauigkeit an einer großen Zahl klinisch relevanter Proben ($n > 30$) mit Testsystemen, die in verschiedenen Chargen hergestellt wurden. Mehrere Nutzer sollten Tests sowohl durchführen als auch interpretieren. Die Absicht einer Feldstudie auf Stufe 3 ist nicht die Fehlersuche, sondern die Demonstration der Validität des POC-Tests (oft mit dem Zweck, eine behördliche Genehmigung zu erhalten). Eine Feldstudie oberhalb von Stufe 4 setzt voraus, dass ein Testsystem eine Stufe-3-Feldstudie bestanden hat und praktisch ein fertiges Produkt ist. Auf Stufe 4 ist das Ziel der Feldforschung der Nachweis, dass die Nutzung des Testsystems am POC signifikante Vorteile bietet. Für Stufe 3 und darüber ist Unterstützung durch eine Firma oft entscheidend, damit zusätzlich zur Validierung und Wirksamkeitsprüfung auch Produktionsstandards berücksichtigt werden und der Produktionsmaßstab vergrößert werden kann.

2.6. Ethische Abwägungen

Forschung unter Beteiligung menschlicher Testpersonen benötigt normalerweise die Genehmigung einer Ethikkommission (Institutional Review Board, IRB). IRBs sind Komitees, die an Universitäten und Kliniken üblich sind; sie begutachten alle Forschungsanträge, die menschliche Testpersonen beinhalten, um zu garantieren, dass Studien nach ethischen Maßstäben gestaltet werden und Teilnehmer ordnungsgemäß informiert und geschützt werden. (Eine wichtige, für die Diagnostik relevante Ausnahme ist die Verwendung existenter Proben, die entweder frei verfügbar sind oder so beschafft werden, dass die Testpersonen nicht iden-

Tabelle 2: Repräsentativer Zeitplan für die Überführung eines Testsystems vom Labor zu einer Feldevaluation.

Aufgabe	5-Jahres-Zeitplan				
	1	2	3	4	5
1. Definieren des Problems					
a)	Teamaufbau				
b)	Bedarfsanalyse				
2. Design und Testen des Testsystems					
a)	Prototypherstellung				
b)	Feedback von Endnutzern				
c)	Validierung mit klinischen Proben				
d)	Qualitätskontrolle/Stabilität/Lagerung				
3. begleitende Aktivitäten					
a)	Beantragen von Fördermitteln				
b)	IRB-Genehmigungen				
c)	institutionelle Vereinbarungen				
3. Feldevaluation					
a)	Versuchsdesign				
b)	Versand/Kauf von Vorräten				
c)	Training				
d)	Pilotphase				
e)	Studie				
4. nächste Schritte					
a)	Analyse der Ergebnisse				
b)	Publikation				
c)	Diskussion mit Firmen				

tifizierbar sind.) Auf jeden Fall sollten Forscher, die an einer Feldevaluation beteiligt sind, ein Training zur Arbeit mit menschlichen Testpersonen absolvieren. Der IRB-Prüfungsprozess ist, obwohl oft mühsam, wesentlich, um die Studienteilnehmer vor physikalischem oder emotionalem Schaden zu bewahren. In der Tat können IRBs wertvolle Orientierungshilfen bieten, um eine ethisch angemessene und korrekte Datenerfassung sicherzustellen. Oft sind diese Komitees sachkundig bei behördlichen Anforderungen und können dabei helfen, die Studie für eine behördliche Genehmigung geeignet zu konzipieren. Genehmigt werden müssen im Ausland durchgeführte Feldstudien generell von einem IRB im Land der Studie (wofür es notwendig sein kann, mit dem dortigen Gesundheitsministerium zusammenzuarbeiten) und von einem IRB im Land, in dem das Forschungsprojekt initiiert wurde. Jedes IRB kann unterschiedliche Anforderungen und Standards haben, und es kann mehrere Monate dauern, diese in Einklang zu bringen.

2.7. Studiendesign

Sobald ein Prototyp bereit für den Feldtest ist oder sich oberhalb von Stufe 2 (Evaluation) befindet, tritt das Design der Studie in eine entscheidende Phase. Jetzt muss man klare Ziele der Studie ausgeben. Das gesamte Team sollte wissen, welche Stufe der Feldforschung erwartet wird, weil sich Ziele und Anforderungen, wie erwähnt, von Stufe zu Stufe erheblich unterscheiden. Während des Designprozesses sollte ein Übereinkommen zwischen der Forschungseinrichtung und dem Ort der Feldforschung getroffen werden. Dieses Übereinkommen kann die Form eines Untervertrags oder einer Absichtserklärung haben. Klare Erwartungen an die zu leistenden Arbeiten, inklusive einer präzisen Festlegung von finanziellen Verpflichtungen und Verantwortlichkeiten, sollten festgehalten werden.

Während einer Feldevaluation könnte man das Testsystem in eine ländliche Klinik bringen, um Rückmeldungen über die Betriebseigenschaften und das Design des Testsystems sowie über die Interpretation des Tests zu erhalten. Derlei Feldforschung fällt in Stufe 1 und bringt verschiedene Anforderungen an die Partner in NMELs und an den Aufbau der Studie mit sich. Eine Feldevaluation und eine Bewertung der Verwendbarkeit am POC können gleichzeitig durchgeführt werden, aber beide benötigen einen eigenen Satz von Zielvorgaben. In manchen Fällen können beide getrennte IRB-Genehmigungen benötigen.

Feldevaluationen jenseits von Stufe 2 und vor dem abschließenden Test der Leistungsfähigkeit (Stufe 4) schließen normalerweise das Überprüfen der Testsystemleistung an klinisch relevanten Proben ein. Das Einschätzen der Leistung erfordert den Vergleich von Messungen durch das Testsystem mit einem „Goldstandard“ (z.B. einem breit akzeptierten klinischen Standardtest). Oft sind diese Tests am POC nicht verfügbar. Die Notwendigkeit eines Vergleichs der Ergebnisse mit einem Goldstandard kann bedeuten, dass erste Studien in einem regionalen Krankenhaus im Land der Studie ausgeführt werden müssen, wo die notwendige Ausrüstung für den Standardtest verfügbar ist, und nicht einer ländlichen

Klinik. Wenn man die Leistungsfähigkeit eines Testsystems charakterisieren möchte, ist es essenziell, mit bewährten Verfahren^[31,32] und fundierten Statistiken zu arbeiten^[33] (z.B. Sicherstellen einer ausreichenden Anzahl von Proben für eine statistische Aussagekraft,^[34] richtiges Verblinden von Proben^[31] sowie wohldefinierte Einschluss- und Ausschlusskriterien^[31]).

Die Rekrutierung und das Training von Personal für die Durchführung der Studie können Wochen oder gar Monate dauern. Zeit in die Suche nach qualifiziertem und engagiertem Personal zu investieren, wird eine Studie letztlich widerstandsfähiger gegen unerwartete äußere Einflüsse machen. Das Training benötigt klare Anweisungen zu Rekrutierung, Arbeitsschritten, Probensammlung und -Verteilung, Durchführung des POC-Tests, Durchführung des Standardtests und Aufzeichnung der Ergebnisse. Manchmal können Organisationen wie die in Tabelle 1 vorgestellten helfen, diesen Prozess zu beschleunigen. Zusätzlich zur Zeit für das Training sollte auch Zeit für eine Pilotstudie vorsehen werden, bevor die Hauptstudie beginnt. Eine Pilotphase ermöglicht es, logistische Probleme zu erkennen und zu beseitigen, ohne die Qualität der Daten aus der Studie zu beeinträchtigen.

Instrumente, die zur Sammlung von Daten (z.B. Fragebögen und Laborprotokolle) verwendet werden, sollten so viele Informationen wie möglich enthalten, ohne hinderlich zu werden. Der Weg vom Labor und zum Feld führt viele Variablen ein; wenn diese äußeren Effekte nicht im Auge behalten werden, kann die Studie schwer interpretierbar sein. Ereignisse, die ein Testsystem beeinflussen können, treten ab der Herstellung des Testsystems im Labor bis zum Zeitpunkt seines Einsatzes auf, allerdings werden einige Faktoren nicht sofort offenbar. Zum Beispiel wird oft vergessen, einen Temperaturoaufzeichner mit den Testsystemen zu versenden (siehe Abschnitte 3.7, 4.7 und 4.10).

2.8. Kontext und Kultur

Früh in der Entwicklung eines Testsystems eine funktionierende Beziehung mit den Partnern im Ausland aufzubauen, verringert das Risiko späterer Missverständnisse während der Umsetzung einer Feldstudie oder Evaluation. Partner haben eventuell (vor allem im Klinikbereich) keine festgelegte Zeitspanne für die Forschung zur Verfügung, und ihre Arbeit kann sie davon abhalten, ausreichend Zeit in die Studie zu investieren. In solchen Fällen kann es angebracht sein, einen eigenen Studienkoordinator für das Projekt anzustellen. Unterschiedliche Länder haben unterschiedliche hierarchische Strukturen. Das Verstehen der lokalen Kultur kann gesellschaftlichen Fehlritten vorbeugen, die eine Studie untergraben und eine Partnerschaft gefährden können.

2.9. Herausforderungen

Angesichts all der Schwierigkeiten bei der Durchführung einer internationalen Kooperation sind unerwartete Herausforderungen unvermeidlich. Streiks, Naturkatastrophen und

regionale Instabilitäten sind nur einige wenige Beispiele für Ereignisse, die ein Projekt bedrohen können. Das Projekt muss einen Zeitplan haben, aber auch flexibel sein. Jedes Hindernis, das ohne große Mühe überwunden werden kann, ist ein Zeichen dafür, dass das Testsystem auf einem guten Weg ist.

3. Fallstudie 1: Leberfunktionstest

3.1. Das Problem

Dank Bemühungen im Kampf gegen HIV haben NMELs heute Zugang zu antiretroviraler Therapie (ART). 2013 erhielten mehr als 10 Millionen Menschen ART.^[35] Ein von Medikamenten induzierter Leberschaden (drug-induced liver injury, DILI) ist eine bedeutende, mit ART einhergehende Nebenwirkung. Nevirapin-basierte ART – in der entwickelten Welt weit verbreitet – ist wegen Hepatotoxizitätsraten (einer Art Leberschaden) von >13% von besonderem Belang.^[36,37] Die Überwachung der Leberfunktion bietet ein wichtiges Hilfsmittel, um die ART zu kontrollieren;^[37,38] Dosen und Behandlungen können angepasst werden, wenn Zeichen von Leberschäden oder Hepatitis auftreten. Tests zur Überwachung der Leberfunktion sind in Umgebungen mit geringen Ressourcen, in denen viele HIV-Patienten behandelt werden, jedoch oft nicht verfügbar. Die Bestimmung des Spiegels von Serum-Transaminasen (Aspartat-Aminotransferase, AST, und Alanin-Aminotransferase, ALT) bietet einen Standard zur Überwachung von DILI, erfordert normalerweise aber zentralisierte Labors und Venenpunktionen.^[39]

3.2. Der Test

AST und ALT sind innerhalb der Leber in Hepatozyten konzentriert und normalerweise im Serum nur in niedrigen Konzentrationen (5–40 Enzymeinheiten L⁻¹ für AST und 5–35 Enzymeinheiten L⁻¹ für ALT) vorhanden. Wenn eine Verletzung, ein Giftstoff oder eine Entzündung die Hepatozyten beschädigen, sondern diese größere Konzentrationen von Transaminase ins Serum ab. Das Verhältnis von AST zu ALT kann zur Bestimmung der Ursache eines Leberschadens dienen; durch Alkohol verursachte Leberschäden führen z. B. oft zu einem AST/ALT-Verhältnis >2:1.^[39] Durch die Wahl von Enzymen (in diesem Fall Transaminasen) als Indikatoren für Leberschäden konnten wir, indem wir für jedes Enzym ein spezifisches, zu einer Farbänderung führendes Substrat bereitstellten, einen kolorimetrischen Test entwickeln. Die Chemie des Nachweises von AST und ALT beschreiben wir im Detail an anderer Stelle.^[8,9]

3.3. Das Team

Wir stellten ein Team auf, das Hochschule, Industrie und Medizin kombinierte. Ein Businessplan-Wettbewerb an der Harvard Business School brachte Wirtschaftsstudenten mit

Wissenschaftlern der Whitesides-Gruppe zusammen. Diese hatte eine erste Idee für 3D-Papier-Mikrofluidik-Testsysteme formuliert, die den technischen Ausgangspunkt für die Entwicklung des Tests der Leberfunktion boten.^[7,9,40–42]

Diagnostics for All Inc. (DFA) wurde in Form einer gemeinnützigen (501-c-3) Organisation gegründet, um papierbasierte Testsysteme – oder in der Tat jede Art von Testsystem, das für die gedachte Aufgabe geeignet ist – zur Diagnostik zu entwickeln. Akademische Gruppen sind hervorragend bei Grundlagenforschung und Innovation, ihnen fehlen aber normalerweise Ressourcen, Anreize, Motivation und Erfahrung für die detailorientierte Entwicklungsarbeit, die für Studien, behördliche Zulassung, Herstellung und Qualitätskontrolle eines Produkts notwendig ist. DFA bot ein Vehikel für entsprechende, hochqualitative Ingenieursarbeit. Die Entscheidung, DFA als gemeinnützige Firma zu gründen, entsprang der Idee, dass ein gewinnorientierter Rechtsträger, der Investoren Rechenschaft schuldig ist, die wiederum an finanziellem Ertrag interessiert sind, gezwungen sein könnte, sich auf Probleme der entwickelten Welt zu fokussieren, anstatt die Technologie zur Lösung von Problemen in Entwicklungsländern zu nutzen. Ob ein profitorientiertes oder ein gemeinnütziges Modell letztlich effektiver für POC-Diagnostik für ressourcenbeschränkte Umgebungen ist, wird sich noch erweisen. Die Entwicklung eines HIV-Tests durch eine Gruppe um Sia (an der Columbia University) und Linder (bei Claros, jetzt OPKO) bietet ein Alternativbeispiel.^[43] Chin, Liner und Sia veröffentlichten auch eine hilfreiche Übersicht über zahlreiche Firmen, die an der Kommerzialisierung von POC-Diagnostik arbeiten, und deren Finanzierungsstruktur.^[44]

Früh identifizierte das Team den Bedarf für einen POC-Leberfunktionstest; Diskussionen mit Ärzten an Krankenhäusern der Bostoner Gegend sowie mit Experten aus dem Bereich der öffentlichen Gesundheit bestätigten die Wichtigkeit des Problems, vor allem in Ländern, in denen ein großer Bevölkerungsanteil wegen HIV behandelt wird. Nachdem zunächst sechs verschiedene Tests in Betracht gezogen worden waren, einigte sich das Team letztlich auf ALT und AST.

DFA entwickelte einen robusten Test und integrierte die Probenentnahme, -vorbereitung und -auswertung in ein einzelnes Testsystem. Dr. Nira Pollock am Beth Israel Deaconess Medical Center (BIDMC) bot medizinische Beratung und leitete die klinische Validierung in Boston. Sie identifizierte einen Ort in Vietnam, um den Test unter Feldbedingungen zu evaluieren. Nach der ersten Validierung bat DFA Bernhard Weigl, den Direktor des NIH-finanzierten Center for Point of Care Testing beim Program for Affordable Healthcare Technology (PATH) um Unterstützung bei der Durchführung einer Feldevaluierung. (Wir erwähnen einige Personen natürlich, die besonders wichtig bei der Entwicklung des Tests waren, um die Zahl und die Vielfalt von Personen, Fähigkeiten und Beziehungen zu betonen, die notwendig sind, um einen Feldtest erfolgreich zum Abschluss zu bringen.)

3.4. Entwurf einer Lösung

Für eine POC-Überwachung von DILI entwickelten wir einen kostengünstigen, schnellen Leberfunktionstest (LFT) auf Serum-Transaminase mithilfe papierbasierter Mikrofluidik.^[8,9] Papier bietet einen billigen Träger für biologische Tests. Muster im Papier ermöglichen einen Fluss im Parallelbetrieb und kleine Testzonen; diese verringern den Bedarf an großen Volumina teurer Reagenzien. Papierbasierte Mikrofluidiktestsysteme sind vielversprechend für POC-Tests, bei denen niedrige Kosten ein Schlüsselkriterium sind. Tests, die häufig und möglicherweise in großem Volumen durchgeführt werden (z.B. Tests zur Überwachung der Leberfunktion), sind besonders kostenempfindlich.

Das spezifische Problem der Leberfunktionsmessung gab Richtlinien für das Design des Tests vor. Die Standardtests auf Serum-Transaminase ermöglichen zwar eine quantitative Messung, allerdings werden diese Tests normalerweise in drei Klassen interpretiert. Ein Schnelltest muss eine halbquantitative Ablesung bieten, die es erlaubt, die Ergebnisse auf die drei Klassen zu verteilen, aber weitere Genauigkeit ist nicht notwendig. Wir entwickelten deshalb einen kalorimetrischen Test mit einer Ablesehilfe (einem Standardfarbbalken), die es Nutzern möglich machen würde, mit beiden Tests eine halbquantitative Messung durchzuführen (Abbildung 3). Die Vergleichswerte für ALT und AST basieren auf Messungen im Blutserum. Um Serum (für den Test benötigt) vom Vollblut zu trennen, integrierten wir eine Plasmatrennmembran in das Papiertestsystem.

Das Testsystem wurde entworfen, so einfach wie möglich bedienbar und mit dem Auge interpretierbar zu sein. Es wurde mit Plastik laminiert, um die Testzonen im Papier vor der äußeren Umgebung zu schützen. Ein kleines Loch in der Laminierung über der Plasmatrennmembran bot einen Zugang, um Blut direkt von einem Fingereinstich aufzunehmen. Direkt in das Testsystem eingebaute Positiv- und Negativkontrollen boten eine Anzeige für die Validität der Resultate (z.B. „Reagentien wirken“, „Blut wurde nicht lysiert“). Verbesserungen bei Nutzerfreundlichkeit, Empfindlichkeit und Interpretation des Tests flossen in mehrere Iterationen des Designs ein (Abbildung 4).

3.5. Validierung und Vorbereitung für die Feldevaluation

Wir testeten die analytische, operative und klinische Leistung der LFT-Testsysteme.^[8,9] Diese Studien umfassten das Definieren der Nachweisgrenzen, Beurteilen der Wiederholbarkeit, Überprüfen von Kreuzreaktionen und Interferenz, Optimieren der Testdauer, Entwerfen von Methoden zur Probenablesung, Vergleichen der Testleistung mit der von Goldstandardmethoden sowie Testen der Umweltstabilität des Testsystems. Ziel dieser Studien war es, das Testsystem zu validieren und den Zeitpunkt für Feldtests festzulegen.

Während dieser Zeit reisten Mitglieder des Teams von DFA ins Ausland zu Konferenzen und Treffen mit möglichen

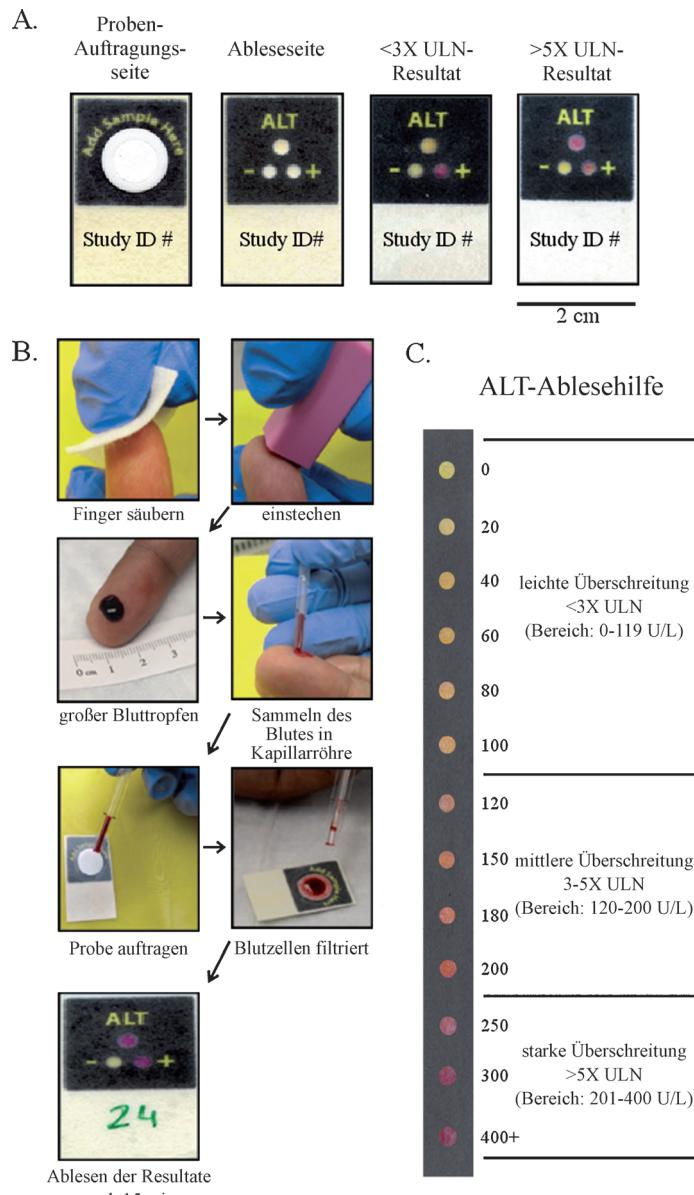


Abbildung 3. Der Aufbau eines papierbasierten Leberfunktionstests bietet einen halbquantitativen Test auf Serum-Transaminasen. A) Das briefmarkengroße Testsystem nimmt eine Blutprobe auf der Auftragungsseite auf und bietet eine kolorimetrische Ablesung auf der Ableseseite. B) Der gesamte Prozess der Durchführung des Tests erfordert minimale Probenbearbeitung. C) Gültige Resultate werden basierend auf der Überschreitung der Obergrenze für die Normalwerte (upper limit of normal, ULN) unter Nutzung einer Ablesehilfe interpretiert und in drei Klassen unterteilt.

Endnutzern. Eine Reise nach Indien 2010 ermöglichte einem DFA-Mitarbeiter, dortigen klinischen Laborangestellten das damalige Design des LFT (Abbildung 4, Iteration 2) vorzuzeigen. Diese empfanden das Testsystem als zu klein und wiesen darauf hin, dass Deckenventilatoren in der heißen Umgebung möglicherweise die Verdampfung beschleunigen und die Dynamik des Tests verändern könnten. Spätere Iterationen vergrößerten das Testsystem und fügten einen kleinen weißen Streifen hinzu, um das Greifen des Testsystems zu vereinfachen (Abbildung 4, Iteration 3 und später). Revi-

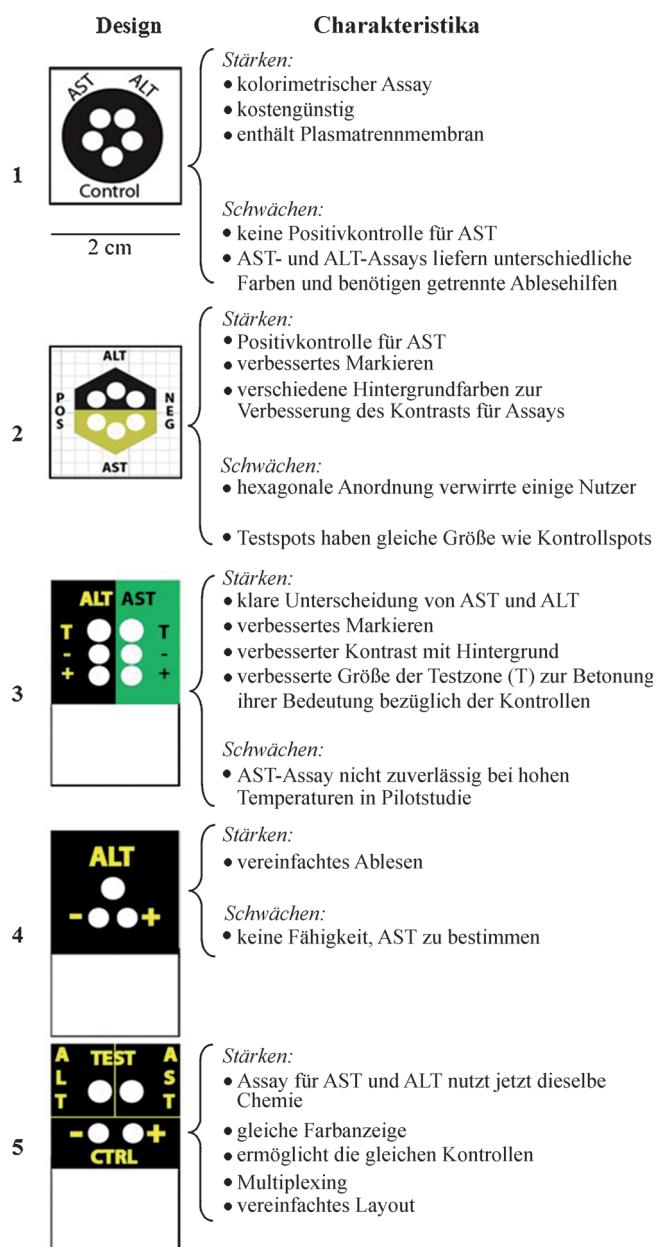


Abbildung 4. Iterationen des Designs eines schnellen Leberfunktions-tests (1–5). Jede Abbildung hat denselben Maßstab. Die Charakteristika jeder Iteration demonstrieren Verbesserungen für die Entwicklung eines nutzerfreundlichen Testsystems.

dierter Vorschriften zur Testdurchführung schrieben das Platzieren des Testsystems unter ein Glas vor, um Verdampfung zu minimieren.

Nach drei Jahren Entwicklung entschied das Team, eine Feldevaluation durchzuführen, um qualitativ hochwertige Daten für das Verfeinern des Testsystems zu sammeln. Die Feldevaluation würde auch dabei helfen, Designaspekte, die sich als vorteilhaft erwiesen hatten, zu fixieren; dieser Schritt würde zukünftige Studien für die behördliche Validierung ermöglichen. Vor allem aber hofften wir, dass die Feldstudie uns zeigen würde, wie gut das Testsystem in einem Umfeld funktioniert, in dem es eine Auswirkung auf die Gesundheitsversorgung haben könnte.

3.6. Finanzierung der Studie

Erste Entwicklungsarbeiten wurden durch eine Forschungsbeihilfe der BMGF unterstützt. Diese Zuwendung ermöglichte auch einige frühe Reisen in Länder, in denen eine große Zahl mit ART behandelter Patienten von einer DILI-Überwachung profitieren könnte. Dr. Pollock wurde von einem NIH K23 Grant unterstützt, um die klinische Validierung in Boston durchzuführen. Durch die Zusammenarbeit mit PATH waren wir in der Lage, die Feldevaluation durch ihr NIH-finanziertes Center to Advance Point-of-Care Diagnostics for Global Health zu finanzieren.

3.7. Studienaufbau

Um genügend Daten zu erhalten, wollten wir mit 600 Patienten in einem kontrollierten Feldversuchsrahmen arbeiten. In Zusammenarbeit mit dem BIDMC suchten wir einen internationalen Partner, der mit einer großen Zahl von ART-behandelten Patienten arbeitete und der von einem POC-LFT profitieren würde. Auch musste bei dem Partner die Infrastruktur vorhanden sein, um Serum-Transaminase als Goldstandard vergleichend mit unseren Tests zu messen. Das BIDMC hatte durch die Harvard AIDS Initiative in Vietnam eine langjährige Partnerschaft mit dortigen Krankenhäusern aufgebaut. Dr. Pollock brachte uns in Kontakt mit Dr. Donn Colby, der als Teil dieses Programms jahrelang in Vietnam gelebt und mit dortigen Krankenhäusern zusammengearbeitet hatte. Dr. Colby bot uns eine unerlässliche Verbindung zwischen dem medizinischen Team, das das Testsystem entwickelte, und den örtlichen Einrichtungen in Vietnam. Mit Dr. Colbys Hilfe wurde das Hospital for Tropical Diseases (HTD) in Ho-Chi-Minh-Stadt als Ort für die Tests identifiziert.

Die HIV-Klinik am HTD bot die richtige Kombination von ausreichender Patientenzahl und unterstützender Infrastruktur. Die von uns gewählte Klinik hatte 3000 HIV-positive Patienten pro Jahr, die mit ART behandelt wurden. Von diesen befand sich ein signifikanter Anteil in Nevirapin-basierter ART (die ein bekanntes DILI-Risiko aufweist) oder in Gefahr einer Koinfektion mit Hepatitis B (HBV, 15 % Häufigkeit) und/oder Hepatitis C (HCV, 25 % Häufigkeit), die beide Leberschäden verursachen können und von einer Überwachung der Leberfunktion profitieren würden. Auch führte die Klinik eine Routineüberwachung von Transaminase (einmal alle sechs Monate) bei der HIV-Behandlung von Patienten durch. In der Konsequenz hatte die Klinik die Fähigkeit, Standardtests durchzuführen, konnte aber auch von einem POC-LFT für häufigeres und kostengünstigeres Testen profitieren.

Bei der Studie wurde mit Patienten gearbeitet, die von ihren Ärzten einen Termin für eine klinische Routineuntersuchung von ALT (durch Venenpunktion gewonnene Proben) erhalten hatten; nach der Venenpunktion erhielten die Patienten noch einen Fingereinstich für den LFT. Das Team wählte als Zielpersonen Erwachsene aus, da diese Bevölkerungsgruppe die größte wäre, die vom LFT profitieren würde, und zudem in der Lage wäre, eigenständig ihr Ein-

verständnis auf Basis der ihnen zur Verfügung gestellten Informationen zu geben (eine wichtige Überlegung, um IRB-Genehmigungsprozesse und Zustimmungsprozeduren zu vereinfachen). Die Feldstudie in Vietnam wurde sowohl von den Institutional Review Boards am HTD als auch von den Research Ethics Committees des PATH und am BIDMC genehmigt.

Die Zusammenarbeit mit dem HTD anstelle einer ländlichen Klinik ermöglichte die Validierung von Resultaten mit Standardtests. Ressourcen am HTD (Roche Cobas 6000 Analyzer) erlaubten automatisches Testen auf ALT. Die Studie sammelte nach Möglichkeit noch weitere klinische Informationen mit Relevanz für die Leistung des Testsystems: HBV-Erkrankung, HCV-Erkrankung, derzeitige HIV-Medikamente, derzeitige Tuberkulosemedikamente, aktuellste CD4-Zahl. Auch die Ergebnisse von allen Labortests, die am Tag des Studienbeitritts gleichzeitig mit ALT angefordert wurden, wurden gesammelt (z.B. in Bezug auf AST, Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozytenzahl und Kreatinin).

Abgesehen von klinischen Informationen zeichneten wir auch andere Variablen auf, die die Leistungsfähigkeit des LFT hätten beeinflussen können. Verpackte LFTs wurden unter Umgebungsbedingungen gelagert, und ein Temperatur- und Feuchtigkeitsaufzeichner in Kombination mit Wetteraufzeichnungen von Weather Underground (<http://www.wunderground.com>) lieferte ein Protokoll der Umgebungsbedingungen. Anfangs wurden während des Versands von LFTs nach Vietnam keine Datenaufzeichner beigelegt; dies geschah erst bei der zweiten Lieferung.

Drei Aktivitäten fanden am Ort der Studie statt: 1) Training, 2) Pilotphase und 3) Studienphase. Das Training war dazu gedacht, das gesamte Personal mit der Studie vertraut zu machen und Kompetenzen bei der LFT-Ablesung aufzubauen. An der Pilotphase sollten 50 Probanden teilnehmen; diese Phase sollte sicherstellen, dass der Studienablauf wie erwartet funktionierte, bevor wir die Studienphase starteten und 600 Patienten für sechs Monate anwarben.

3.8. Umsetzung

Ungefähr einen Monat vor Beginn der Studie reisten Repräsentanten von PATH und DFA ans HTD, um Krankenschwestern für die Mitarbeit in der Studie zu trainieren. Der Trainingsplan umfasste die Zielvorgaben der Studie, das Anwerbeverfahren, einen Überblick über die Funktionen des Testsystems, das Prozedere von Fingereinstich und Transfer der Probe auf das Testsystem sowie die Ablesung von Testattrappen zu Übungszwecken. Die Krankenschwestern wurden speziell darauf hingewiesen, die Testergebnisse alleine, ohne Kontakt mit einer andern Person, abzulesen und aufzuzeichnen. Die Krankenschwestern mussten einen Leistungstest mit Attrappen bestehen (>80% Klassifizierungsgenauigkeit und 100% Bestimmung von ungültigen Tests), bevor die Anwerbung von Patienten beginnen konnte. Scheiterten sie bei diesem Test, wurden sie erneut an den Testattrappen trainiert und geprüft. Jede Krankenschwester hatte nur zwei Versuche, den Test zu bestehen. Während der Pilotphase erhielten die Krankenschwestern von einem DFA-

Repräsentanten sofortige Rückmeldung zur korrekten oder inkorrekt Verwendung (inklusive der Probentransferprozedur und der Ablesung vom Testsystem). Es gab keine zusätzlichen Trainingsmaßnahmen oder Rückmeldungen, sobald die Aufnahme von Patienten in die Studie begann.

Die Temperaturen waren während der Pilotphase oft höher als der Temperaturbereich, für den der LFT entwickelt worden war (4–30 °C). Die Ablesezeit des Testsystems wurde an die höhere Temperatur angepasst, und der AST-Test wurde wegen ungenügender Temperaturstabilität der hierfür benötigten Reagentien entfernt. (Aktuelle Verbesserungen im AST-Test haben sich mit diesen Problemen befasst und werden in zukünftigen Studien evaluiert werden.)

Alle Tests erfolgten gemäß einer Gebrauchsanweisung, die DFA jedem Produkt beilegte; deren Details sind an anderer Stelle beschrieben.^[10] Insbesondere wurde jeder Test von zwei Krankenschwestern abgelesen. Weder die Patienten noch deren Ärzte wurden von den Ergebnissen der Fingereinstichtests informiert. Obwohl die Feldforschung nur einen Zeitraum von sechs Monate umfasste, dauerten die Planung der Studie, der Erhalt der IRB-Genehmigungen und das Durchführen der Arbeit vor Ort länger als ein Jahr.

3.9. Kontext und Kultur

Mit mehreren Partnern zu arbeiten – Akademikern (Harvard und BIDMC), einer gemeinnützigen Firma (DFA), einer NGO (PATH) und einem Krankenhaus (HTD) – bot den Vorteil, dass auf das Spezialwissen und die Erfahrung jedes der verschiedenen Partner zurückgegriffen werden konnte. Das Abstimmen solch einer multiinstitutionellen Kooperation bringt jedoch auch Schwierigkeiten mit sich. Jeder Partner hat seine eigenen Bedürfnisse und seinen eigenen Zeitrahmen. Akademiker wollen Ergebnisse veröffentlichten, Krankenhäuser müssen genug Personal für ihren primären Betrieb außerhalb der Studie zur Verfügung haben, Firmen wollen so viel wie möglich über ihren Test für die Anwendung in der Entwicklung lernen, und NGOs müssen sichergehen, dass das Testsystem genügend ausgereift ist, um die Investition von Zeit und Ressourcen in eine Studie zu rechtfertigen. In Fall der Feldstudie in Vietnam glauben wir, dass wir allen diesen Bedürfnissen gerecht geworden sind, aber ein solcher Erfolg erfordert klare, offene und häufige Kommunikation zu Beginn und während der Studie. Zum Beispiel hatten DFA und PATH zehn Krankenschwestern haben wollen, die die Tests unabhängig ablesen sollten, um die Übereinstimmung beim visuellen Test abzuschätzen. Das HTD war jedoch wegen seiner limitierten Ressourcen nicht bereit, der Studie so viele Krankenschwestern zur Verfügung zu stellen. Ein Kompromiss wurde erreicht, indem das HTD der Studie drei Krankenschwestern bereitstellte. Anstatt einer Anstellung der Krankenschwestern durch DFA oder PATH erhielt das HTD als Subunternehmer Geldmittel und teilte der Studie Krankenschwestern zu.

Jedes Gesundheitssystem arbeitet unterschiedlich, und Unterschiede in den Normen können eine Studie erheblich stören. Am HTD rotieren Krankenschwestern alle sechs Monate ihre Positionen. Als das Team von PATH und DFA

ankam, begann es, während der Pilotphase Krankenschwestern in der Mitte eines Rotationszyklus zu trainieren; so wäre das gesamte ausgebildete Personal wegen der Rotation mitten in der Studie aus der Klinik abgerufen worden, was zu wesentlichen Inkonsistenzen hätte führen können. Die Praxis der Personalrotation wurde glücklicherweise während der Pilotstudie von PATH-Trainern bemerkt. Es gelang ihnen, mit dem HTD auszuhandeln, dass der Großteil des trainierten Schlüsselpersonals während der Dauer der Studie am Krankenhaus verblieb.

Manchmal können Patienten zögern, an einer Studie teilzunehmen, wenn es keine direkte Kompensation gibt. Die Arbeit mit einer HIV-Klinik, an der Patienten sowieso schon regelmäßig auf DILI untersucht werden, minimiert die Erfordernis, den möglichen zukünftigen Vorteil eines schnellen LFT zu erklären.

3.10. Herausforderungen

Die Studie identifizierte eine Reihe von Parametern des LFT, die verbessert werden könnten. Einige betrafen die Nutzerfreundlichkeit (z.B. das für korrekte Klassifizierung notwendige Training). Andere bezogen sich auf die Qualitätskontrolle der Komponenten (mehrere Tests waren ungültig, da eine Charge Plasmatrennmembranen fehlerhaft war). Obwohl DFA den Einfluss von Umweltbedingungen (Feuchtigkeit und Temperatur) auf die Haltbarkeitsdauer testete, wiesen die Resultate der Studie darauf hin, dass die Stabilität (überraschenderweise der Reagentien, nicht der Enzyme) weitere Verbesserungen benötigte. Die örtlichen Temperaturen erreichten im Verlauf der Studie 36°C und waren damit höher als für die Lagerung empfohlen.

Zu Beginn der Studie empfanden die Krankenschwestern die Testsysteme als schwer ablesbar; am Ende der Studie berichteten sie jedoch, dass die Tests in 90% der Fälle leicht zu lesen seien und dass die Anweisungen, die dem Test beilagen, „sehr klar und einfach zu befolgen“ seien. Die am häufigsten erwähnte Schwierigkeit war der Abgleich der Farbe auf dem Testsystem mit der Farbskala der Ablesehilfe (Abbildung 3).

3.11. Gelernte Lektionen

Die Feldevaluation identifizierte mehrere Aspekte, die Verbesserungen benötigten. Zum Beispiel benötigte die Klassifizierung eine Erweiterung der Dynamikumfangs des Tests, um deutlichere visuelle Farbunterschiede zwischen verschiedenen Werten von ALT darzustellen. Die Minimierung der Zahl ungültiger Tests erforderte verbesserte Qualitätsprüfungen bei kommerziellen Materialien, die zur LFT-Fertigung verwendet wurden, und eine Verschärfung der kontrollierten Umgebungsbedingungen während der Fertigung, um die Variabilität zwischen den Chargen zu verringern. Auch die Stabilisierung der Reagentien auf dem Testsystem war erforderlich, um die Haltbarkeit zu verbessern.

Wie viele Schnelltests erfordert der LFT, dass die Resultate während eines spezifischen Zeitfensters (nach 12–

14 min) abgelesen werden. Mehrere Krankenschwestern drückten den nachvollziehbaren Wunsch aus, dass Tests weniger zeitempfindlich sein sollten; idealerweise wollten sie einen Test, der jederzeit über einen Zeitraum von mehreren Stunden nach der Durchführung abgelesen werden könnte.

POC-Diagnostik auf Grundlage papierbasierter Mikrofluidik war zwar ausführlich in akademischen Studien erforscht worden, jedoch war diese Studie die erste Feldevaluation eines Testsystems dieses Typs in großem Maßstab. Sie lieferte den Beweis, dass ein papierbasiertes Testsystem in NMELs praxistauglich ist. Im Besonderen konnte sie nachweisen, dass Krankenhauspersonal, das Tests an einer klinisch relevanten Bevölkerungsgruppe durchführt, gute Übereinstimmungen bei den Ergebnissen der visuellen Ablesung erzielt. Eine Weiterentwicklung dieses Testsystems für die klinische Verwendung wird allerdings noch weitere iterative Optimierungen erfordern. Diese ersten Feldevaluationen haben die Richtung für die weitere Entwicklung gewiesen.

3.12. Nächste Schritte

Die neuesten Prototypen haben eine bessere Genauigkeit, eine geringere Empfindlichkeit gegenüber Umweltbedingungen und – was noch wichtiger ist – eine Haltbarkeitsdauer von mehr als einem Jahr bei 20–30°C. Die meisten der in Vietnam identifizierten Probleme wurden gelöst. Wir bereiten im Moment eine Feldstudie des neuen Prototyps vor und beginnen den Prozess der Validierung des Produkts für die behördliche Zulassung (CE-Kennzeichnung).

Das intensive Training der Nutzer, das im Kontext der ersten Studie möglich war, wird außerhalb eines Studienhintergrunds wahrscheinlich nicht durchführbar sein. Ein umfassendes Verständnis der minimalen Trainingsanforderungen für neue Nutzer wird letztlich entscheidend sein, um die Bandbreite klinischer Umgebungen, in denen dieser Test verwendet werden kann – ob in zentralisierten Kliniken mit erfahrenem Personal, dezentralisierten klinischen Umfeldern mit minimal trainierten Gesundheitsarbeitern oder sogar zu Hause –, zu erkennen. DFA plant im Moment eine Studie mit untrainierten Nutzern mit 50–100 Teilnehmern, um die Clinical-Laboratory-Improvement-waived-Zertifizierung für das LFT-Testsystem zu erhalten.

4. Fallstudie 2: diagnostischer Test auf Sichelzellen

4.1. Das Problem

Sichelzellanämie (Sickle cell disease, SCD) ist eine Krankheit, bei der eine frühe Diagnose einen großen Einfluss auf den Gesundheitszustand haben kann. Jedes Jahr werden über 300000 Kinder mit SCD geboren, davon die meisten in Afrika südlich der Sahara und in Indien.^[44] In Ländern ohne Früherkennung und -behandlung liegen die Sterblichkeitsraten von Kindern mit dieser Krankheit unter fünf Jahren bei 50–90%.^[45] Solch einfache Vorgehensweisen wie die prophylaktische Verabreichung von Penicillin und die Aufklärung der Eltern können die Kindersterblichkeitsrate signifi-

kant beeinflussen.^[46] Das Fehlen eines kostengünstigen POC-Schnelltests für SCD bedeutet jedoch, dass das Potenzial dieser Vorgehensweisen kaum verwirklicht worden ist.

4.2. Der Test

Die DichteVerteilung roter Blutkörperchen ist bei SCD, anders als die von Blutkörperchen einer gesunden Person, heterogen.^[47,48] Bei SCD führen Sichelung und Dehydratation zur Bildung von Blutkörperchen ($\rho > 1.12 \text{ g cm}^{-3}$), die dichter als die dichtesten roten Blutkörperchen eines gesunden Menschen ($\rho \approx 1.10 \text{ g cm}^{-3}$) sind.^[47-50] Wir entwickelten wässrige, mehrphasige Systeme (aqueous multiphase systems, AMPSs) – Mischungen von Polymeren in Wasser, die sich spontan in nicht mischbare, flüssige Phasen trennen – um für SCD charakteristische, dichte Zellen zu trennen und ihre Präsenz visuell nachzuweisen. Wir entwarfen ein zweiphasiges ($\rho_{\text{top}} = 1.078 \text{ g cm}^{-3}$; $\rho_{\text{bot}} = 1.129 \text{ g cm}^{-3}$) und ein dreiphasiges System ($\rho_{\text{top}} = 1.077 \text{ g cm}^{-3}$; $\rho_{\text{mid}} = 1.108 \text{ g cm}^{-3}$; $\rho_{\text{bot}} = 1.120 \text{ g cm}^{-3}$), sodass nur dichte, für SCD charakteristische Zellen in der Lage sein würden, durch die unterste (dichteste) Phase hindurch zu sinken und eine sichtbare rote Schicht zwischen der untersten Phase und dem Verschluss am unteren Ende des Behälters zu bilden. Die Details dieser Methode sind an anderer Stelle zusammengefasst.^[12,13]

4.3. Das Team

Die Whitesides-Gruppe hatte AMPSs entwickelt.^[12,51] Eine zufällige Begegnung mit Dr. Thomas Stossel (Brigham and Women's Hospital, Boston) lieferte den Anstoß, ernsthaft über SCD nachzudenken. Dr. Stossel hatte fast ein Jahrzehnt als Mediziner im ländlichen Sambia gearbeitet. Auch verstand er die Randbedingungen, die ein Test einhalten müsste, um in ländlichen Gebieten von Nutzen zu sein.

Sobald das Team den möglichen Nutzen eines dichtebasierter Tests zur Diagnose von Sichelzellanämie erkannte, kontaktierten wir Dr. Carlo Brugnara (Children's Hospital, Boston) als Experten bezüglich der Dichte roter Blutzellen bei SCD.^[52,53] Dr. Stossel brachte das Team mit Dr. Catherine Chunda-Liyoka, einer Ärztin am University Teaching Hospital (UTH) in Lusaka (Sambia) in Kontakt. Chunda-Liyoka komplementierte mit ihrer Erfahrung bei der Behandlung von SCD-Patienten in Sambia Dr. Stossels Kenntnis über die zu erfüllenden Bedingungen für eine Sichelzelldiagnostik.

Drei Jahre vergingen vom Aufstellen eines ersten Konzepts bis hin zur Feldevaluation (Tabelle 3). Das Tempo der Entwicklung wurde zum Teil durch die Einfachheit der Technologie sowie durch effiziente Zusammenarbeit der Teammitglieder beim Design und Umsetzen der Feldtests angetrieben.

4.4. Überlegungen zum Design

Unter Verwendung von AMPSs generierten wir einen thermodynamisch stabilen, stufenförmigen Dichteverlauf, um bei SCD vorhandene Zellen zu trennen und einen visuellen Test zu entwickeln.^[12] Der Stufenverlauf, der sich in AMPSs beim gravitationsbedingten Absetzen oder – schneller – durch Zentrifugation bildet, ermöglicht es uns, große Mengen dieser Polymermischungen herzustellen und in Mikrohämatokrit-Kapillarröhrchen zu füllen. Die Dichte von roten Blutkörperchen kann sich als Reaktion auf die Eigenschaften des Mediums (z.B. pH und Osmolalität) ändern. Wir entwarfen deshalb unseren ersten Test derart, dass er einem physiologischen pH-Wert (7.40 ± 0.02) und physiologischer Osmolalität [$(295 \pm 15) \text{ mOsm kg}^{-1}$] entspricht.^[54] (Auch andere Werte dieser Parameter könnten für einen Schnelltest nützlich sein. Die Veränderung eines der Werte kann eine Anpassung der Phasendichten nötig machen, um auf Dichteverchiebungen, die bei roten Blutkörperchen auftreten können, zu reagieren.)

Diskussionen mit Dr. Stossel und Dr. Chunda-Liyoka zeigten auf, dass es wichtig war, die Anforderungen an die elektrische Leistung für den Test sowie an seine Dauer zu minimieren, sodass er in ländlichen Kliniken durchgeführt

Tabelle 3: Zeitverlauf von der Konzeptualisierung eines dichtebasierter Schnelltests auf Sichelzellanämie bis zur Feldevaluation in Sambia.

Aufgabe	Zeitplan			
	2011	2012	2013	2014
1. Definieren des Problems				
a) Teamaufbau				
b) Bedarfsanalyse				
2. Design und Testen des Testsystems				
a) Prototypherstellung				
b) Feedback von Endnutzern				
c) Validierung mit klinischen Proben				
d) Qualitätskontrolle/Stabilität/Lagerung				
3. begleitende Aktivitäten				
a) Beantragen von Fördermitteln				
b) IRB-Genehmigungen				
c) institutionelle Vereinbarungen				
4. Feldevaluation				
a) Versuchsdesign				
b) Versand/Kauf von Vorräten				
c) Training				
d) Pilotphase				
e) Studie				
4. nächste Schritte				
a) Analyse der Ergebnisse				
b) Publikation				
c) Diskussion mit Firmen				

werden könnte. Zentrifugation ist wichtig, damit sich Zellen in einer ausreichend kurzen Zeit (Minuten anstatt Stunden) durch ein AMPS bewegen können. Je schneller die Zentrifuge, desto höher die Leistung, die benötigt wird, aber desto kürzer die Zeit, die für den Test erforderlich ist. Wir kamen zu dem Schluss, dass die Verkürzung der Dauer wichtiger war als die Reduzierung des Stromverbrauchs.

Wir konnten den AMPS-basierten Test in weniger als 15 min durchführen, indem wir eine Zentrifuge mit einer Schleuderziffer von 13700 g verwendeten; solch eine Zentrifuge benötigt Leistung. Distrikt- und Provinzkrankenhäuser in Sambia haben Zugang zum elektrischen Netz; viele Sambier erhalten ihre Gesundheitsversorgung jedoch in ländlichen Kliniken. In ländlichen Kliniken und Dörfern kann man oft Solarmodule finden, die Autobatterien aufladen. Wir nutzten daher einen Gleichspannungswandler, um die Zentrifuge mit einer Autobatterie anzutreiben.

Der gesamte Prozess der Interaktion eines Patienten mit einem Diagnoseverfahren – von der Probengewinnung bis zum Ablesen der Ergebnisse – muss sorgfältig auf Nutzerfreundlichkeit und Sicherheit ausgelegt werden (Abbildung 5). Wir nutzten ein Polycarbonat- anstatt eines Glasröhrcens, um Brechen und die Gefahr von Stichwunden zu vermeiden. Wir entwarfen den Test so, dass die Röhrchen mit Polymerlösungen vorgefüllt werden sollten. Es ist nicht einfach, die Blutprobe von einem Fingereinstich zu sammeln und sie auf einfache und praktische Weise in das Testsystem zu überführen. Wir durchliefen mehrere Entwürfe (Abbildung S1 der Hintergrundinformationen), bis wir eine Methode – unter Nutzung von Kapillarwirkung – fanden, um eine Kapillare, die am einen Ende bereits versiegelt und teilweise mit einem AMPS gefüllt war, mit einem genauen Volumen von Blut zu versetzen. Visuelle Ablesung machte zusätzliche Ausrüstung oder Computer unnötig. Die Einbindung von Aspekten der Probengewinnung und Ablesung in das Design des Testsystems gewährleistete eine problemlose Verwendung durch den Endnutzer: Ein Nutzer müsste nur einen Tropfen Blut einführen und das kleine Testsystem in der Zentrifuge schleudern lassen.

4.5. Validierung bestätigt die Eignung der Technologie für Feldstudien

Von unseren Kooperationspartnern am Children's Hospital Boston bereitgestellte Proben ermöglichten uns schnelle Verbesserungen erster Iterationen des dichtebasierten Tests. Sobald AMPS-Dichten identifiziert wurden, die zu Unterschieden zwischen normalem Blut und Blut kranker Personen mit Sichelzellanämie führten, wurde das Design festgeschrieben, und es wurden Tests an einer großen Anzahl von Proben ($n=59$) durchgeführt. Um diese Probenmenge zu erreichen, arbeiteten wir mit Sergey Sheykolyas, damals an der Tulane University, und Dr. Julie Kantner, damals am Sickle Cell Center of Southern Louisiana, zusammen.

Für den ersten Machbarkeitsnachweis bezogen wir die beiden Hauptgenotypen von SCD (HbSS und HbSC) ein und testeten auch nichterkrankte Träger (HbAS) zusammen mit anderen Personen ohne Sichelzellen (HbAA). Erste Resul-

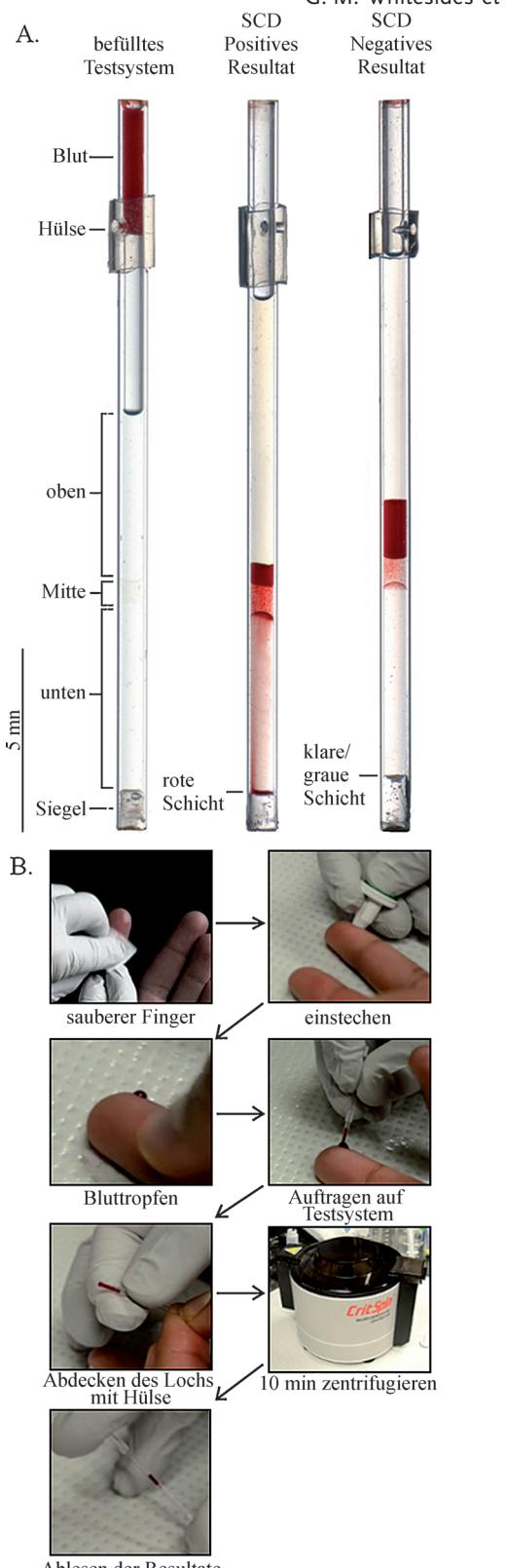


Abbildung 5. AMPSs ermöglichen einen einfachen, dichtebasierten SCD-Schnelltest. A) Eine mit AMPS vorgefüllte Kapillare saugt ein festgelegtes Volumen Blut in das Testsystem. Nach dem Verschließen des Einfülllochs mit einer Hülse ermöglicht Zentrifugation eine schnelle Ablagerung von Zellen durch die AMPSs hindurch und liefert ein Resultat, das mit bloßem Auge abgelesen werden kann. Eine rote Schicht oberhalb des Siegels am unteren Ende des Röhrchens lässt auf ein Vorliegen von SCD schließen. B) Der gesamte Prozess, inklusive Zentrifugation, benötigt ca. 12 min.

tate belegten die vielversprechende Fähigkeit, nach nur 10 min Zentrifugation mit nur einem Bluttropfen (ca. 5 µL) zwischen SCD und nicht-SCD zu unterscheiden. Wir begannen auch, an Verpackung und Lagerung zu forschen. Dazu nutzten wir verschiedene Verpackungsmaterialien und beschleunigten den Lagerungstest zur Beurteilung des Verdunstungsrisikos in einem Ofen, bevor wir uns für ein bestimmtes Verpackungssystem zur Evaluation in Sambia entschieden.^[13]

4.6. Finanzierung der Studie

Während der klinische Bedarf für einen SCD-Schnelltest offensichtlich war, war es der Weg zur Finanzierung einer solchen Forschung nicht. Im Allgemeinen ist die Finanzierungssituation bei SCD schlecht, wie dies oft bei vernachlässigten tropischen und seltenen Krankheiten der Fall ist. Wir begannen daher, uns für einige Innovationspreise im Bereich der globalen Gesundheit zu bewerben. Eine Schwierigkeit bei diesen Zuschüssen war der Druck, Daten aus der Feldforschung vorweisen zu können, um die Preisverleihung zu begründen – Forschung, die solche Daten zur Verfügung stellt, muss jedoch wiederum erst finanziert werden. Dieses Henne-Ei-Szenario ist charakteristisch für Projekte in der translationalen Medizin, also bei der Überführung vom Labor in die Praxis.

Um unsere erste Finanzierung für den Bereich der SCD zu erhalten, mussten wir erst über andere Anwendungen für die AMPS-Technologie nachdenken, die für die Förderorganisationen interessanter sein könnten. Indem wir vorschlugen, AMPSs sowohl zur Diagnose von SCD als auch zur Anreicherung von zirkulierenden Tumorzellen zu verwenden, waren wir in der Lage, einen erfolgreichen Projektvorschlag für den Blavatnik Biomedical Accelerator Fund zusammenzustellen. Dieser Preis unterstützte die Entwicklung des Tests und die Feldstudie am UTH. Ein kleinerer Preis vom Harvard Global Health Institute ermöglichte es uns, eine Evaluation der Nutzerfreundlichkeit des Test mit Endnutzern an ländlichen Kliniken in Sambia durchzuführen.

Daten unserer Feldstudie halfen uns, die Finanzierung einer zweiten Feldstudie durch das Consortium for Affordable Medical Technologies (ein Teil des Center for Global Health des Massachusetts General Hospital) zu sichern.

4.7. Studienaufbau

Dr. Stossels Verbindung nach Sambia war eine der Motivationen, die Arbeit an einem SCD-Diagnosetestsystem zu beginnen, weshalb Sambia eine natürliche Wahl für die Feldevaluation war. Das Team aus Harvard begann in Verbindung mit Dr. Chunda-Liyoka am UTH, Zuschussanträge, Studienprotokolle und IRB-Anträge zu entwerfen.

Der Ort für die Feldevaluation war das Department of Paediatrics am Department of Haematology am UTH in Lusaka (Sambia). Das UTH war in der Lage, die Ausrüstung für die Durchführung einer Goldstandardmessung von SCD (d.h. Hämoglobinelektrophorese) zu unterhalten und hatte

auch eine große Anzahl von SCD-Patienten. Das UTH überwacht Patienten mit SCD in einem Programm, das regelmäßige Untersuchungen umfasst. 2014 betreute das UTH mehr als 3000 Patienten mit SCD und bot jeden Freitag ungefähr 50 von ihnen Untersuchungen an.

Die größte Relevanz hat ein SCD-Schnelltest bei Kindern, weshalb bei der Studie nur Personen unter 18 Jahren aufgenommen wurden. Die Arbeit mit Kindern erforderte die Zustimmung eines Vormunds und ab einem gewissen Alter auch die Einwilligung der Kinder. Die Berücksichtigung von Unterschieden in Lese-/Schreibfähigkeit und Sprache kam zu den Anforderungen des Zustimmungsprozesses hinzu, um einen angemessenen Schutz der Testpersonen zu gewährleisten. Die enge Zusammenarbeit mit sowohl dem lokalen IRB in Sambia als auch dem Committee on the Use of Human Subject in Harvard war entscheidend, um sicherzugehen, dass alle ethischen Forschungsaspekte berücksichtigt wurden.

SCD-Untersuchungen am UTH basierten vor allem auf Löslichkeitstests. Auf positive Befunde folgte Gelelektrophorese. Die Elektrophoreseausstattung war jedoch relativ alt und unzuverlässig. Ein Teil des Studienbudgets wurde deshalb für die Aufrüstung des klinischen Labors mit einer halbautomatischen Hämoglobinelektrophoreseeinheit (SAS1/2, Helena) verwendet. Dieses Testsystem ermöglichte quantitative Messungen von verschiedenen Hämoglobintypen, inklusive fötalem Hämoglobin (HBF) – ein Parameter, der für den dichtebasierten Test von Interesse ist. Wir nahmen bei allen Testpersonen routinemäßig auch das komplette Blutbild (complete blood count, CBC) auf und nutzten einen Fragebogen, um einfache demographische Daten sowie Informationen über mögliche Störfaktoren für unsere Methode (wie eine kürzlich erfolgte Sichelzellkrise) zu sammeln.

Außer der Sammlung medizinischer Daten entwickelten wir auch Methoden zur Erfassung von Testsystemen mit Verpackungsversagen, der Temperatur am Testtag sowie der Zeiten zwischen Blutabnahme und Einsatz des Schnell- und Goldstandardtests. Richtlinien für die Verwendung von Proben für verschiedene Tests (CBC, Hämoglobinelektrophorese und der Schnelltest) wurden basierend auf den Vorgaben der Hersteller oder, im Fall des Schnelltests, auf Grundlage der ersten Validierung festgelegt. Proben, die mit egal welcher Methode außerhalb des empfohlenen Zeitrahmens untersucht wurden, sollten ungültig sein. Eine Variable, die in der Designphase dieser Studie übersehen wurde, war das Hinzufügen von Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsaufzeichnern während des Versands.

Durch das Harvard-Catalyst-Programm beriet sich das Team mit einem Biostatistiker, um die Größe der Gruppe, die für die Studie rekrutiert werden sollte, festzulegen. Die Studie wurde so konzipiert, dass etwa 600 Testpersonen über sechs Monate rekrutiert werden sollten. Der Prozess von Studiendesign, Erhalt der IRB-Zustimmung und Aufbau der Hämoglobinelektrophorese-Ausrüstung dauerte mehr als neun Monate.

Zusätzlich zur Evaluation der Leistung des Tests wollten wir ihn auch auf seine Nutzerfreundlichkeit prüfen. In Zusammenarbeit mit dem UTH und dem U.S. Peace Corps in Sambia identifizierten wir ländliche Kliniken für Besuche und entwarfen ein Programm, um den Test zu erklären und

Rückmeldungen zu bekommen. Das IRB in den USA erklärte, dass die Umfrage wegen ihres minimalen Risikos und der Art der gesammelten Informationen von einer vollständigen Überprüfung als Forschung mit menschlichen Testsubjekten ausgenommen sei; das IRB in Sambia forderte jedoch eine vollständige Überprüfung der Umfragen.

4.8. Umsetzung

Ein Forscher aus Harvard reiste zu Beginn der Studie nach Lusaka. Der Aufbau der Studie dauerte eine Woche. Ein voller Trainingstag für das Studienpersonal umfasste das gesamte Studiendesign, den Arbeitsablauf, die Rekrutierung, die Nutzung des Schnelltests und das Datenmanagement. Vier Ableser (zwei Labortechniker und zwei Krankenschwestern) wurden anhand von Aufnahmen der Resultate von Schnelltests sowie anhand von Vorführungen durch einen erfahrenen Ableser trainiert. Ein Poster, das jeden Schritt des Schnelltests zeigte, wurde an einer gut sichtbaren Stelle des Labors aufgehängt. Eine zweiwöchige Pilotphase folgte.

Die Pilotphase war entscheidend für den Erfolg der Studie. Während dieser Zeit bewerteten wir die anfängliche Übereinstimmungsrate zwischen Ablesern am UTH und dem erfahrenen Ableser. Wir identifizierten und behoben mögliche Probleme bei Probenhandhabung und Arbeitsablauf. Zum Beispiel wurden Blutproben in Vacutainers (Becton Dickinson) gesammelt, die Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) als Antikoagulans enthielten. Von jeder Probe wurde ein Teil in ein zweites Röhrchen gefüllt. Ein Röhrchen ging anschließend an das Labor, das die Hämoglobinelektrophorese durchführte, und das andere an das Labor, das den Schnelltest ausführte. Die Verwendung von getrennten Laboren half beim Verblinden der Studie. Zu Beginn enthielt auch das zweite Röhrchen, das mit Blut gefüllt wurde, EDTA. Dieses zusätzliche EDTA hätte eine Dehydratation der Zellen verursachen und so den Test beeinträchtigen können. Dieses mögliche Problem wurde während der Pilotphase erkannt, weshalb alle folgenden Proben auf unbehandelte Röhrchen aufgeteilt wurden, nachdem sie in mit Antikoagulans behandelten Röhrchen gesammelt worden waren.

In der Mitte der Studie kehrte der erfahrene Ableser zurück und führte einen Test zur Übereinstimmungsrate mit drei lokalen Ablesern durch. Während der Studie fertigte das Team in Harvard Chargen von AMPS-Lösungen und stellte Pakete mit hunderten Schnelltests zum Versand nach Sambia (von Hand) zusammen.

4.9. Kontext und Kultur

Die Rekrutierung von Testpersonen mit SCD war viel einfacher als die Rekrutierung von Testpersonen ohne SCD, da Patienten mit dieser Krankheit und ihre Eltern mehr Wissen über SCD und den Bedarf an einem diagnostischen Test als der Rest der Bevölkerung hatten. Gelegentlich entschieden die Eltern, nicht an der Studie teilzunehmen, da sie Bedenken hatten, was mit dem Blut ihres Kindes gemacht werden könnte. Einige Eltern glaubten, ein Mensch besitze

während seines gesamten Lebens nur eine endliche Menge Blut, und befürchteten daher, ihrem Kind bleibe nicht genügend Blut übrig, wenn sie der Studie über die medizinisch notwendige Blutabnahme hinausgehend Blut zur Verfügungstellten.

4.10. Herausforderungen

Mehrere unerwartete Hindernisse stellten sich der Vollendung der Studie in den Weg, aber alle konnten glücklicherweise bewältigt werden. Zweimal während der sechsmonatigen Studie streikten die Krankenschwestern am UTH. Obwohl die an der Studie beteiligten Krankenschwestern nicht streikten, vergrößerte sich doch ihre Arbeitsbelastung durch ihre nicht studienbezogenen Verpflichtungen. Dass die Rekrutierung von Testpersonen während dieser Zeit weiterging, ist ein Zeugnis des Einsatzes dieser Krankenschwestern für die Studie.

Ungefähr in der Mitte der Studie brach ein großes Feuer im Nairobi International Airport in Kenia aus. Obwohl weit von Lusaka entfernt, war dieser Flughafen Teil der Versandroute für die Testchargen, die nach Sambia verschickt wurden. Das Feuer brach direkt nach dem Verschicken einer der Chargen aus, und infolgedessen brauchte diese Charge eine zusätzliche Woche, um am UTH anzukommen. Die Testsysteme wurden durch diese zusätzliche Versandzeit und die stark erhöhten Temperaturen, während sie auf Weiterversand durch den beschädigten Flughafen warteten, eventuell beschädigt. Die Bedingungen während des Versands wurden leider nicht aufgezeichnet. In der Tat war die Leistungsfähigkeit der verspäteten Charge signifikant schlechter als die der anderen Chargen,^[13] aber wir konnten ohne zusätzliche Informationen keinen Ausschluss von der Datenanalyse rechtfertigen. Diese Erfahrung demonstriert, wie wichtig es ist, klare Parameter festzulegen – inklusive Versand- und Lagerungsbedingungen unter Verwendung von Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsaufzeichnern –, um gültige Resultate zu erhalten.

Während der Streik der Krankenschwestern die Studie nicht unterbrach, verursachten Probleme in der Versorgungskette einen temporären Stillstand. Wir kauften ursprünglich 20% mehr Elektrophoresegel, als wir für die Studie für notwendig hielten. Ein Fehler im Heizelement des Elektrophoresetestsystems führte aber dazu, dass nur acht von zwölf Spuren ordnungsgemäß liefen. Verzögerungen bei der Beschaffung eines Technikers zur Reparatur des Testsystems führten dazu, dass uns das Gel ausging, bevor die Rekrutierung beendet war. Daraus resultierte ein einmonatiger Stillstand der Studie, während wir auf zusätzliches Gel vom Anbieter warteten. Diese Verzögerung hinderte uns daran, die ursprünglich geplante Anzahl von Teilnehmern aufzunehmen, aber wir waren dennoch in der Lage, genug Proben zu sammeln, um statistische Aussagekraft zu erzielen, bevor das Budget der Studie ausgeschöpft war. Die Abhängigkeit des Goldstandardtests von Wartung und technischen Fachkenntnissen unterstrich den Bedarf an einem einfachen Design von POC-Testsystmenen.

4.11. Gelernte Lektionen

Die Details zur Leistung des Testsystems und zu Nutzer-rückmeldungen sind an anderer Stelle beschrieben.^[13] Von den beiden untersuchten Testsystemen hatte das bessere eine diagnostische Genauigkeit von 77 %. Diese Genauigkeit war ein ermutigender erster Schritt hin zu einem praktikablen Test, aber ein Anstieg der Genauigkeit (auf vielleicht 90 %) wird noch immer benötigt, bevor der Test für den klinischen Gebrauch akzeptabel wird. Im Allgemeinen waren falsch-positive Resultate häufiger als falsch-negative (häufiger, als in den ersten Validierungsstudien gefunden wurde). Schwankungen zwischen Chargen waren erheblich. Wir arbeiten derzeit an der Verbesserung der Qualitätskontrolle und der Entwicklung von Standards bei der Verwendung der Schnelltests, um die Abweichungen zwischen Chargen zu verringern. Die Übereinstimmungsrate zwischen den Ableseern war groß, könnte aber mit eindeutigeren Ablesehilfen und ausführlicherem Training noch verbessert werden.

Zusätzlich zum technischen Wissen als Resultat der Feldevaluation gewannen wir auch signifikantes kontextuelles Wissen. Der Besuch der ländlichen Kliniken war besonders informativ. Wir konnten verifizieren, dass an ländlichen Kliniken angemessene Behandlungsmöglichkeiten für den Test auf SCD sowie ein netzunabhängiger Zugriff auf elektrische Energie mithilfe von durch Solarkollektoren geladenen Batterien vorhanden waren.

Vieleicht einer der interessantesten Befunde der Feldevaluation kam während der Schlussinterviews mit dem Personal der Studie in Sambia ans Licht. Eine Reihe von Personen bemerkte – ohne besondere Aufforderung –, dass sie nun eine neue Perspektive hätten, wenn sie an die Entwicklung von Technologien mit Relevanz für ihr Land dächten: Wenn Forscher im Ausland in der Lage sind, kostengünstige Schnelltests zu ersinnen, könnten vielleicht auch die Sambier selbst nützliche Technologien entwickeln. Zwar ist es im besten Fall schwierig, die Auswirkungen von Inspiration und Innovationsmodellierung zu quantifizieren, allerdings ist das direkte Teilen von Wissen und Fähigkeiten während solch einer internationalen Zusammenarbeit ein willkommener Nebeneffekt.

4.12. Nächste Schritte

Die Entwicklung der nächsten Generation von SCD-Schnelltests ist im Gange. Daten aus der Feldevaluation und erste Forschungsarbeiten haben es uns ermöglicht, neue Finanzierungsanträge zu verfassen, und haben Gespräche mit Firmen angeregt, die an der Weiterentwicklung der Technologie interessiert sind.

5. Schlussfolgerungen und Empfehlungen

5.1. Gelernte allgemeine Lektionen

Die beiden hier vorgestellten Technologien haben noch nicht zu fertigen Produkten geführt, aber die Feldevaluatio-

nen haben die POC-Testsysteme signifikant verbessert und spezifische zu lösende Schwachstellen identifiziert. Zusammengefasst lassen sich aus unseren Erfahrungen folgende Lehren ziehen:

- 1) *Fange früh an, zu planen und Partnerschaften aufzubauen.* Idealerweise sollten Partnerschaften schon stehen, bevor man die Finanzierung beantragt. Langfristige Partnerschaften erlauben eine klare Kommunikation, die es einem Team ermöglicht, ein Problem zu identifizieren und sich auch durch Schwierigkeiten bei einer Feldstudie zu kämpfen.
- 2) *Sammle Rückmeldungen früh und oft.* Selbst wenn eine vollständige Feldstudie nicht für eine bestimmte Phase der Entwicklung eines Testsystems geeignet ist, wird doch das Sammeln von Rückmeldungen zum Design und zur Nutzung eines Testsystems dessen Qualität sowie die Erfolgsschancen einer großen Feldstudie verbessern.
- 3) *Zeichne jede Variable auf.* Egal wie die Validierung durchgeführt wird, wird es Variablen geben, die in den technischen Spezifikationen des Testsystems nicht berücksichtigt wurden. Selbst wenn nicht jede Variable kontrolliert wird, können doch die meisten Variablen gemessen werden, und diese Daten können sich als Schlüssel zum Verstehen der Befunde der Feldstudie erweisen.
- 4) *Plane eine größere Zahl von Testpersonen ein, als dem benötigten Minimum entspricht.* Unerwartete Probleme können eine Studie unterbrechen oder vorzeitig beenden. Das Verstehen der statistischen Aussagekraft einer Studie sowie der Zahl, um die die Probenanzahl verringert werden kann, bevor die Studie an Wert verliert, ist entscheidend. Mehr Testpersonen als nötig vorzusehen (im angemessenen Rahmen), verleiht Flexibilität bei der zeitlichen Planung der Studie. Unserer Erfahrung nach war ein Puffer von 20–30 % zusätzlicher Testpersonen erforderlich, um die erwünschte statistische Aussagekraft zu erzielen.
- 5) *Habe Geduld.* Nimm dir die Zeit, die IRB-Zustimmung zu bekommen, jeden Teil des Protokolls festzulegen, die Details der Versorgungskette auszuarbeiten und eine Pilotstudie durchzuführen – dies sind alles wichtige Schritte, um zu gewährleisten, dass eine Feldstudie erfolgreich sein wird.

Vor allem sollte man nicht annehmen, die Phase der Erfindung und des Machbarkeitsnachweises in einem Hochschullabor sei der schwere, kreative Teil und der Rest bestehe nur aus technischen Details. Die Feldstudien und die Optimierung sind mit Sicherheit teurer, organisatorisch schwieriger und zeitaufwändiger und bestimmt nicht weniger technisch anspruchsvoll.

5.2. Vom Labortisch ins Feld und vom Feld ins Regal

Feldevaluationen sind nicht nur eine Firmendomäne. Obwohl eine gemeinnützige Firma (DFA) mit Fähigkeiten im Bioingenieurswesen und eine Hochschulgruppe (das Whitesides-Labor), spezialisierter in innovativer Forschung, gemeinsam den LFT entwickelten, leitete letztlich eine NGO

(PATH) die Feldevaluation des LFT-Testsystems. Eine Hochschulgruppe (die Whitesides-Gruppe) führte die Feld-evaluation des AMPS-basierten Schnelltests auf SCD mit Partnern am UTH durch. Die Fähigkeit, Funktionalität (auch nicht perfekte Funktionalität) im Feld zu demonstrieren, verringert das Risiko bei der weiteren Entwicklung außerordentlich und gibt den beteiligten Gruppen eine Möglichkeit, mehr Ressourcen für weitere Arbeiten zu erhalten (durch finanzielle Zuschüsse, Kooperationen oder Transfer der Technologien zu größeren Organisationen).

Viele der Entwicklungsschritte von POC-Diagnosemethoden für NMELs sind auch in entwickelten Ländern relevant:

- 1) Zusammenarbeit mit Ärzten und Endnutzern zur Identifizierung eines Problems
- 2) Erhalt einer IRB-Genehmigung
- 3) Validierung des Testsystems anhand relevanter Proben mit an der Entwicklung nicht beteiligten Nutzern
- 4) Vergleich der Leistung mit der eines Goldstandards
- 5) Test der Stabilität der Testsysteme während Lagerung und Versand

Die Einschränkungen durch Kosten und Hilfstechnologien mögen lockerer sein, aber wie bei POC-Diagnostik für NMELs müssen die Beschränkungen im Kontext der spezifischen Anwendung verstanden werden: Verbraucher in den USA mögen in der Lage zu sein, sich einen zehnmal teureren POC-Test zu leisten als ein Verbraucher in Indien, aber in beiden Fällen muss der Test von den Verbrauchern einfach zu nutzen sein.

Wir hoffen, dass eines Tages sowohl der LFT als auch das SCT-AMPS in den Regalen von Kliniken als vollständige Produkte zur Verfügung stehen werden, aber erfolgreiche Feldstudien sind nur Schritte auf dem Weg zu diesem Ziel. Wenn der Tag kommt, an dem aus diesen Technologien fertige Produkte resultieren, werden die gewonnene Erfahrung und die gelernten Lektionen aus frühen Feldevaluationen eine wichtige Rolle gespielt haben.

Die erste, entscheidende Finanzierung dieser Arbeit wurde von der BMGF in einem Programm, das zusammen mit Dr. Boris Nikolic zusammengestellt wurde, zur Verfügung gestellt. Wir danken Dr. Nira Pollock (BIDMC), Sarah McGray (PATH), Dr. Bernhard Weigl (PATH), Dr. Sarah Vella (Xerox), Dr. Andres Martinez (California Polytechnic) und Sariah Khor-mae (Harvard Medical School) für hilfreiche Gespräche und Diskussionen. Wir danken auch den Teams in den USA, Sambia und Vietnam, die die Feldforschung möglich gemacht haben. Die ursprüngliche Arbeit in papierbasierter Diagnostik wurde von Scott Phillips und Andres Martinez durchgeführt und von der Arbeit von Sam Sia und Vincent Linder angeregt. A.A.K. dankt für die Unterstützung durch ein Graduate Research Fellowship der National Science Foundation. J.W.H. und B.S.S wurden durch die BMGF (51308) unterstützt.

Zitierweise: Angew. Chem. Int. Ed. **2015**, *54*, 5836–5853
Angew. Chem. **2015**, *127*, 5932–5951

- [1] P. Yager, G. J. Domingo, J. Gerdes, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2008**, *10*, 107–144.
- [2] S. K. Sia, L. J. Kricka, *Lab Chip* **2008**, *8*, 1982–1983.
- [3] C. D. Chin, V. Linder, S. K. Sia, *Lab Chip* **2007**, *7*, 41–57.
- [4] C. D. Chin, V. Linder, S. K. Sia, *Lab Chip* **2012**, *12*, 2118–2134.
- [5] G. Whitesides, *Lab Chip* **2014**, *14*, 3125–3126.
- [6] D. A. Pitta, R. Guesalaga, P. Marshall, *J. Consum. Mark.* **2008**, *25*, 393–401.
- [7] A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1318–1320; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1340–1342.
- [8] N. R. Pollock, J. P. Rolland, S. Kumar, P. D. Beattie, S. Jain, F. Noubari, V. L. Wong, R. A. Pohlmann, U. S. Ryan, G. M. Whi-tesides, *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4*, 152ra129.
- [9] S. J. Vella, P. Beattie, R. Cademartiri, A. Laromaine, A. W. Martinez, S. T. Phillips, K. A. Mirica, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 2883–2891.
- [10] N. R. Pollock, S. McGray, D. J. Colby, F. Noubari, H. Nguyen, T. A. Nguyen, S. Khormaei, S. Jain, K. Hawkins, S. Kumar, J. P. Roland, P. D. Beattie, N. V. Chau, V. M. Quang, C. Barfield, K. Tietje, M. Steele, B. H. Weigl, *PLoS One* **2013**, *8*, e75616.
- [11] C. R. Mace, O. Akbulut, A. A. Kumar, N. D. Shapiro, R. Derda, M. R. Patton, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9094–9097.
- [12] A. A. Kumar, M. R. Patton, J. W. Hennek, S. Y. R. Lee, G. D'Alesio-Spina, X. Yang, J. Kanter, S. S. Shevkoplyas, C. Brugnara, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 14864–14869.
- [13] A. A. Kumar, C. Chunda-Liyoka, J. W. Hennek, H. Mantina, S. Y. R. Lee, M. R. Patton, P. Sambo, S. Sinyangwe, C. Kankasa, C. Chintu, C. Brugnara, T. P. Stossel, G. M. Whitesides, *PLoS One* **2014**, *9*, e114540.
- [14] R. W. Peeling, D. Mabey, *Clin. Microbiol. Infect.* **2010**, *16*, 1062–1069.
- [15] D. Mabey, R. W. Peeling, A. Ustianowski, M. D. Perkins, *Nat. Rev. Microbiol.* **2004**, *2*, 231–240.
- [16] Dieses Kriterium mag weniger wichtig in Fällen sein, in denen Anreize durch Regierungsinitiativen oder NGOs geschaffen werden, die die Erforschung seltener Krankheiten fördern wollen. So hat z.B. die Food and Drug Administration (FDA) der USA die Forschung an solchen Krankheiten mithilfe verschiedener Anreize angeregt (<http://www.fda.gov/forindustry/DevelopingProductsforRareDiseasesConditions/default.htm>).
- [17] H. Kettler, K. White, S. Hawkes, *Mapping the Landscape of Diagnostics for Sexually Transmitted Infections: Key Findings and Recommendations*, **2004**. Available at: <http://www.who.int/tdr/publications/documents/mapping-landscape-sti.pdf>.
- [18] eMarketer Inc., „Smartphone Users Worldwide Will Total 1.75 Billion in 2014,“ <http://www.emarketer.com/Article/Smartphone-UsersWorldwide-Will-Total-175-Billion-2014/1010536, 2014>.
- [19] N. P. Pai, C. Vadnais, C. Denkinger, N. Engel, M. Pai, *PLoS Med.* **2012**, *9*, e1001306.
- [20] B. H. Weigl, D. S. Boyle, T. de Los Santos, R. B. Peck, M. S. Steele, *Expert Rev. Med. Devices* **2009**, *6*, 461–464.
- [21] J. Colyvas, M. Crow, A. Gelijns, R. Mazzoleni, R. R. Nelson, N. Rosenberg, B. N. Sampat, *Manage. Sci.* **2002**, *48*, 61–72.
- [22] D. Somaya, *J. Manage.* **2012**, *38*, 1084–1114.
- [23] D. Guellec, C. Martinez, P. Zuniga, *Econ. Innovation New Tech.* **2012**, *21*, 1–29.
- [24] B. A. Caldwell, A. Young, J. Gomez-Marquez, K. R. Olson, *IEEE Pulse* **2011**, *2*, 63–67.
- [25] C. VanVoorhis, B. Morgan, *Tutor. Quant. Methods Psychol.* **2007**, *3*, 43–50.
- [26] G. Cumming, F. Fidler, D. L. Vaux, *J. Cell Biol.* **2007**, *177*, 7–11.
- [27] D. L. Vaux, *Nature* **2012**, *492*, 180–181.

- [28] National Committee for Clinical Laboratory Standards, Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens (Approved Standard HA-A5), NCCLS, Wayne, PA, **2004**.
- [29] C. E. Metz, *Semin. Nucl. Med.* **1978**, *8*, 283–298.
- [30] J. M. Bland, D. G. Altman, *Stat. Methods Med. Res.* **1999**, *8*, 135–160.
- [31] S. J. Pocock, L. M. Friedman, C. D. Furberg, D. L. Demets, *Fundamentals of Clinical Trials*, Springer, New York, **2010**.
- [32] R. Glasgow, D. Magid, A. Beck, *Med. Care* **2005**, *43*, 551–557.
- [33] J. Lachin, *Control. Clin. Trials* **1981**, *2*, 93–113.
- [34] K. S. Button, J. P. A. Ioannidis, C. Mokrysz, B. A. Nosek, J. Flint, E. S. J. Robinson, M. R. Munafò, *Nat. Rev. Neurosci.* **2013**, *14*, 365–376.
- [35] United Nations, *Political Declaration on HIV and AIDS: Intensifying Our Efforts to Eliminate HIV and AIDS*, **2011**; http://www.unaids.org/sites/default/files/sub_landing/files/20110610_UN_A-RES-65-277_en.pdf.
- [36] E. Martínez, J. L. Blanco, J. A. Arnaiz, J. B. Pérez-Cuevas, A. Mocroft, A. Cruceta, M. A. Marcos, A. Milinkovic, M. A. García-Viejo, J. Mallolas, X. Carne, A. Phillips, J. M. Gatell, *AIDS* **2001**, *15*, 1261–1268.
- [37] Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents., *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents*. **2009**; <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>.
- [38] G. Meintjes, G. Maartens, A. Boulle, F. Conradie, E. Goemaere, E. Hefer, D. Johnson, M. Mathe, Y. Moosa, R. Osih, T. Rossouw, G. van Cutsem, E. Variava, F. Venter, D. Spencer, *South Afr. J. HIV Med.* **2012**, *13*, 114–133.
- [39] *Current Medical Diagnostics and Treatment* (Hrsg.: S. J. McPhee, M. A. Papadakis), McGraw Hill, New York, **2010**.
- [40] A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, E. Carrilho, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3–10.
- [41] A. W. Martinez, S. T. Phillips, E. Carrilho, S. W. Thomas, H. Sindi, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3699–3707.
- [42] A. W. Martinez, S. T. Phillips, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 19606–19611.
- [43] C. D. Chin, T. Laksanasopin, Y. K. Cheung, D. Steinmiller, V. Linder, H. Parsa, J. Wang, H. Moore, R. Rouse, G. Umvilighozho, E. Karita, L. Mwambarangwe, S. L. Braunstein, J. van de Wijgert, R. Sahabo, J. E. Justman, W. El-Sadr, S. K. Sia, *Nat. Med.* **2011**, *17*, 1015–1019.
- [44] F. B. Piel, S. I. Hay, S. Gupta, D. J. Weatherall, T. N. Williams, *PLoS Med.* **2013**, *10*, e1001484.
- [45] J. Hankins, R. E. Ware, *Lancet* **2009**, *374*, 1308–1310.
- [46] M. Gaston, J. Verter, G. Woods, C. Pegelow, J. Kelleher, G. Presbury, H. Zarkowsky, E. Vichinsky, R. Iyer, J. Lobel, S. Diamond, C. T. Holbrook, F. M. Gill, K. Ritchey, J. M. Falletta, *N. Engl. J. Med.* **1986**, *314*, 1593–1599.
- [47] M. E. Fabry, J. G. Mears, P. Patel, K. Schaefer-Rego, L. D. Carmichael, G. Martinez, R. L. Nagel, *Blood* **1984**, *64*, 1042–1046.
- [48] S. Embury, M. Clark, *J. Clin. Invest.* **1984**, *73*, 116–123.
- [49] W. H. Grover, A. K. Bryan, M. Diez-Silva, S. Suresh, J. M. Higgins, S. R. Manalis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 10992–10996.
- [50] H. B. Weems, L. S. Lessin, *Acta Haematol.* **1984**, *71*, 361–370.
- [51] A. A. Kumar, C. Lim, Y. Moreno, C. R. Mace, A. Syed, D. Van Tyne, D. F. Wirth, M. T. Duraisingham, G. M. Whitesides, *Am. J. Hematol.* **2015**, *90*, 31–36.
- [52] C. Brugnara, T. Van Ha, D. C. Tosteson, *Blood* **1989**, *74*, 487–495.
- [53] C. Brugnara, *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **2003**, *25*, 927–933.
- [54] A. Kratz, M. Ferraro, P. M. Sluss, K. B. Lewandrowski, *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 1548–1564.

Eingegangen am 5. Dezember 2014