

Diagnostik einheimischer Parasitosen des Menschen: Die Bedeutung molekularbiologischer Methoden in der Medizinischen Parasitologie

Diagnosis of human parasitoses: the role of recombinant DNA techniques
in medical parasitology

M. Frosch

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover

Zusammenfassung:

*Der mikroskopische Direktnachweis eines Parasiten in Körperflüssigkeiten oder Geweben sowie serologische Tests als indirekte Verfahren eines Parasitennachweises stellen die Säulen der parasitologischen Diagnostik dar. Am Beispiel der Toxoplasmose, hervorgerufen durch das Protozoon *Toxoplasma gondii*, und der Echinokokkose, hervorgerufen durch den kleinen Fuchsbandwurm, *Echinococcus multilocularis*, und den Hundebandwurm, *E. granulosus*, werden konventionelle Testverfahren besprochen, und neue Möglichkeiten der Diagnostik durch den Einsatz der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) sowie die Verwendung rekombinanter, Spezies-spezifischer Antigene für die serologische Diagnostik diskutiert.*

Schlüsselwörter:

*Toxoplasmose – *Toxoplasma gondii* – Echinokokkose – *Echinococcus multilocularis* – *Echinococcus granulosus* – cDNA Klone – rekombinante Antigene – Serologie – Polymerase-Kettenreaktion*

Summary:

*The diagnosis of parasitic infections is based on the direct examination of body fluids or tissues by microscopy and on serological assay systems as an indirect diagnostic tool. Conventional diagnostic principles are reviewed (i) for toxoplasmosis, caused by the protozoon *Toxoplasma gondii*, and (ii) for echinococcal infections, caused by the tapeworms *Echinococcus multilocularis* and *E. granulosus*. New diagnostic methods, based on recombinant DNA technology, such as polymerase chain reaction (PCR), and the use of recombinant antigens for serodiagnosis of the parasitoses are discussed.*

Keywords:

*toxoplasmosis – *Toxoplasma gondii* – echinococcosis – *Echinococcus multilocularis* – *Echinococcus granulosus* – cDNA clones – recombinant antigens – serology – polymerase chain reaction*

Einleitung

Im Gegensatz zur Diagnostik bakterieller Infektionskrankheiten, die in der Regel durch den kulturellen Nachweis des pathogenen Agens mit anschließender biochemischer oder serologischer Differenzierung erfolgt, gelingt der kulturelle Nachweis parasitärer Krankheitserreger nur in seltenen Ausnahmen, so daß der direkte Erregernachweis durch das mikroskopische Präparat erfolgt. Der indirekte Rückschluß auf eine Parasitose ist durch den Nachweis Erreger-spezifischer Antikörper im Serum des infizierten Patienten möglich. Auch wenn der mikroskopische Nach-

weis des Parasiten in Blut, Stuhl, Urin oder Biopsien wünschenswert wäre, da das mikroskopische Präparat mit der höchsten Spezifität einhergeht, lassen sich einige Parasiten nur durch indirekte, serologische Testverfahren nachweisen. Dies trifft insbesondere für solche Parasiten zu, die beim Menschen im Gewebe persistieren und von denen keine Entwicklungsstadien ausgeschieden werden.

Serologische Verfahren beruhen bisher in der Regel auf der Verwendung von Gesamtantigen-Präparationen eines Parasiten. Die Vielzahl verschiedener Antigene eines Parasiten bringt zwar eine hohe Sensitivität mit sich, jedoch

finden sich in diesen Antigengemischen auch solche Antigene, die, wie z. B. heat shock Proteine, sehr immunogen sind, aber ubiquitär in allen Organismen vorkommen, und aufgrund starker spezie- und gattungübergreifender Übereinstimmungen der Aminosäure-Sequenz und der Sekundärstruktur zu serologischen Kreuzreaktionen führen. Deshalb müssen oftmals mehrere serologische Testverfahren angewandt werden, um eine zuverlässige Aussage über die vorliegende Parasitose und das Stadium der Infektion treffen zu können.

Anhand zweier Beispiele einheimischer Parasitosen wird die Problematik der parasitologischen Diagnostik diskutiert. Erwähnung finden soll die Toxoplasmose, die weltweit vorkommend auch in unseren Breiten einen hohen Durchseuchungsgrad aufweist, und als konnatale Infektion sowie im Zusammenhang mit HIV-Infektionen große Bedeutung hat. Die Toxoplasmose gilt als AIDS-definierende Infektionskrankheit, die als akute Exzerebration einer chronischen Infektion eine der häufigsten Todesursachen bei diesem immunsupprimierten Personenkreis darstellt. Als ein weiteres Beispiel wird die parasitologische Diagnostik der Echinokokkose besprochen. Der bei uns endemisch vorkommende kleine Fuchsbandwurm, *Echinococcus multilocularis*, gilt hier als Verursacher der häufigsten Form einer Infektion mit Cestoden, wobei die Prävalenz gemessen an seropositiven Blutspendern zwischen 1 bis 10 pro 10000 Einwohnern in den Hyperendemiegebieten Süddeutschlands und der Schweiz [1, 2] liegen dürfte.

Toxoplasma gondii

Das ubiquitär vorkommende, obligat intrazellulär lebende Protozoon *Toxoplasma gondii* gehört zu den häufigsten Parasiten, das alle Warmblüter, inklusive den Menschen befällt. Beim immunkompetenten Menschen verläuft die Infektion meist symptomlos, selten treten Krankheitserscheinungen auf, wobei sich die Toxoplasmose in der Regel als Lymphadenopathie manifestiert. Die Infektion mit *T. gondii* erfolgt über die orale Aufnahme von Bradyzoiten-haltigen Zysten, z. B. durch rohes oder unzureichend erhitztes Fleisch. Alternativ kann die Infektion durch Oozysten erfolgen, die vom Endwirt, der Katze, in deren Darm die geschlechtliche Vermehrung stattfindet, mit dem Kot ausgeschieden werden. Das Tachyzoiten-Stadium von *T. gondii* verursacht eine akute und generalisierende Infektion. Die Tachyzoiten vermehren sich asexuell in den Zellen der Lymphknoten, der Muskulatur und des ZNS. Nach Ausbildung einer Immunität wandeln sie sich in eine Dauerform (Bradyzoiten) um, die über viele Jahre im Gewebe persistieren kann. Durch Schädigung des Immunsystems (HIV-Infektion, Immunsuppressive Therapie) können solche latente Infektionen erneut exazerbieren und dann oftmals tödlich verlaufende Toxoplasma-Enzephalitiden verursachen.

Einen weiteren Infektionsweg stellt die diaplazentare Übertragung des Parasiten auf den Fötus dar, falls die Mutter sich während der Schwangerschaft erstmals infiziert. Als Folge können Entwicklungsstörungen des Kindes, geistige Retardierung, Chorioretinitis, Hydrozephalus und intrazerebrale Verkalkungen auftreten. Schwere Infektionen können zum Abort führen.

Direktnachweis von T. gondii in klinischen Untersuchungsmaterialien

Der direkte Nachweis des Erregers in Blut, Liquor, Amnionflüssigkeit oder Gewebsbiopsien im mikroskopischen, Giemsa-gefärbten Präparat gelingt auf Grund der geringen Parasitendichte nur sehr selten. Statt der Giemsa-Färbung finden auch Fluoreszein-markierte Antikörper Verwendung. Durch intraperitoneale Infektion von Mäusen mit dem Sediment der Körperflüssigkeiten oder mit Organpunktaten kann eine Anreicherung der Parasiten erreicht werden, die sich nach etwa 2 Wochen im Peritonealexudat mikroskopisch nachweisen lassen [3]. Alternativ können Zellkulturverfahren (z. B. HeLa Zellen) zur Vermehrung eingesetzt werden [4]. Diese Verfahren benötigen jedoch etwa 2 Wochen und stehen somit dem Beginn einer frühzeitig einsetzenden und adäquaten Therapie entgegen. Ferner muß der Nachweis von *T. gondii* mit diesen Verfahren aus Organpunktaten kritisch bewertet werden, da in diesen Punktaten auch Zysten im Rahmen einer chronischen Infektion vorkommen können, und somit die Diagnose einer akuten Toxoplasmose nicht zweifelsfrei möglich ist. Allerdings weist die Isolierung von *T. gondii* aus Plazenta, fötalem oder neonatalem Gewebe immer auf eine akute Infektion hin.

Im Rahmen einer akuten Infektion konnten durch ELISA oder Latex-Agglutinationsteste bei Primärinfektionen sowie bei Reaktivierung chronischer Infektionen im Blut zirkulierende Antigene nachgewiesen werden [5–7]. Die Anwendung dieser Verfahren ist in Erprobung und scheint insbesondere bei immuninkompetenten Patienten mit fehlender Immunantwort und negativer Serologie (s. u.) erfolgversprechend. Ferner hält der Nachweis von Toxoplasmaspezifischer DNA mittels der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zunehmend Einzug in die Diagnostik einer akuten Toxoplasmose [8, 9]. Unter mehreren beschriebenen *T. gondii* spezifischen DNA-Sequenzen erscheint das B1-Gen deswegen besonders geeignet, weil es in bis zu 30 Kopien im Genom vorkommt und deswegen neben einer hohen Spezifität auch eine sehr hohe Sensitivität verspricht [8]. Mit Hilfe der PCR basierend auf dem B1 Gen konnten weniger als 10 Parasiten in klinischen Untersuchungsmaterialien nachgewiesen werden. Jedoch gilt auch hier die bereits oben angeführte Einschränkung, daß bei Organbiopsien auch mit dieser Methode nicht sicher zwischen einer akuten Toxoplasmose und chronischen *T. gondii*-Infektion unterschieden werden kann, da mit der PCR DNA nachgewiesen wird, die bei Tachyzoiten während einer akuten Infektion und ruhenden Bradyzoiten gleichermaßen vorkommt. Ziel sollte es daher sein, Stadien-spezifisch exprimierte Gene zu charakterisieren, um ausgehend von Tachyzoiten-spezifischer mRNA, die nicht im Bradyzoiten-Stadium vorkommt, mit Hilfe der reversen PCR [10] die Diagnose einer akuten Toxoplasmose stellen zu können.

Serologische Diagnostik der Toxoplasma-Infektion

Aufgrund des wenig sensitiven Direktnachweises von *T. gondii* in klinischen Untersuchungsmaterialien durch die beschriebenen konventionellen diagnostischen Verfahren kommt bei der Diagnostik einer Toxoplasmose serologischen Verfahren große Bedeutung zu. Insbesondere der

IgM-Nachweis ist in der Diagnostik einer akuten oder konnatalen Toxoplasmose wichtig [11]. Nach neueren Untersuchungen könnte auch der Nachweis von *T. gondii*-spezifischem IgA indikativ für eine akute Infektion sein [12]. Für die serologische Diagnostik wurden Untersuchungsverfahren, wie der Sabin-Feldmann-Test (SFT), der indirekte Immunfluoreszenztest (IFT), die Direktagglutination (DA) und der Immunosorbent-Agglutinationstest (ISAGA), beschrieben. Diese Testverfahren beruhen auf der Verwendung intakter Toxoplasmen und sind insbesondere für die Erfassung des frühen Infektionsstadiums geeignet, da Antikörper gegen Membranbestandteile des Parasiten sehr früh während einer Infektion gebildet werden [13]. Im Gegensatz dazu werden chronische Infektionen gut mit solubilisierten *T. gondii*-Antigenen unter Einschluß zytoplasmatischer Bestandteile erfaßt. Kommerziell erhältliche Tests unter Verwendung von solubilisiertem *T. gondii*-Gesamtantigen sind Hämagglutinations- und Latexagglutinationstests (HA, LAT), Komplement-Bindungsreaktion (KBR) und ELISA.

Diese Testverfahren sind jedoch mit Nachteilen behaftet. Mit dem sehr sensitiven und spezifischen SFT können schon innerhalb von 1–2 Wochen nach einer Infektion *T. gondii*-spezifische Antikörper nachgewiesen werden [14]. Die Antikörper-Antwort erreicht innerhalb von zwei Monaten einen Höhepunkt, um dann wieder abzufallen. Die Durchführung dieses Tests erfordert allerdings lebende Tachyzoiten. Aus diesem Grund wird der SFT nur in wenigen Speziallaboratorien und Referenzzentren durchgeführt. Von vergleichbarer Sensitivität ist der IgM-Nachweis mittels des IFT, jedoch können falsch positive Reaktionen durch die Anwesenheit von Rheumafaktoren und antinukleären Antikörpern vorkommen [15]. Ferner exprimieren *T. gondii*-Tachyzoiten an einem Pol einen Fc-Rezeptor, der ebenfalls eine falsch positive Reaktion vortäuschen kann [16]. Falsch positive Reaktionen wurden für den ISAGA [17] bislang nicht beschrieben. Mit diesem Test können IgM-Antikörper sensitiver als mit dem ELISA oder IFT nachgewiesen werden. Diese Sensitivität bringt es allerdings mit sich, daß IgM-Antikörper u.U. länger als 1 Jahr nach der Infektion nachweisbar sind, sodaß mit diesem Test nur eine eingeschränkte Aussage über das Vorliegen einer frischen Infektion möglich ist [18].

Rekombinante Antigene, die durch Klonierung von *T. gondii*-Tachyzoiten-Antigenen standardisierbar und in großen Mengen in *E. coli* produziert werden können, könnten in der serologischen Diagnostik einer Toxoplasmose zukünftig eine große Rolle spielen. In unserer Arbeitsgruppe konnte kürzlich ein Klon aus einer cDNA-Genbank des Tachyzoitenstadiums von *T. gondii* isoliert werden, der ein Oberflächen-Antigen von Tachyzoiten exprimiert [19]. Dieses Antigen erscheint für die Serodiagnostik einer akuten Toxoplasmose sehr geeignet, da alle bislang untersuchten Patienten mit einer akuten Toxoplasmose mit diesem rekombinant vorliegenden Antigen reagierten, während Seren von chronisch infizierten Personen keine Antikörper gegen dieses Antigen aufwiesen. Zukünftige Arbeiten werden klären müssen, wie früh während einer Infektion Antikörper gegen das rekombinante *T. gondii*-Antigen nachweisbar sind und wie lange diese Antikörper persistieren. Wünschenswert wären serologische Tests

mit rekombinanten Antigenen für die Diagnostik einer akuten Toxoplasmose, die, wie der SFT, sehr früh, aber nur über einen relativ kurzen Zeitraum von wenigen Wochen bis Monaten eine Antikörper-Antwort erfassen. Für die Serodiagnostik chronischer *T. gondii*-Infektionen sind weitere Bemühungen im Gange, hierfür geeignete rekombinante Antigene zu charakterisieren.

Echinococcus granulosus und *E. multilocularis*

Unter den Cestoden spielen die beiden Echinokokken-Spezies *Echinococcus granulosus*, der Hundebandwurm, und *E. multilocularis*, der kleine Fuchsbandwurm, in unseren Breiten die größte Rolle, da beide Parasitosen des Menschen unbehandelt immer tödlich verlaufen. Während *E. granulosus* weltweit, insbesondere in Gegenden mit niedrigem hygienischen Standard, vorkommt, ist das Verbreitungsgebiet von *E. multilocularis* auf die nördliche Hemisphäre beschränkt [1]. Einige Gegenden Mitteleuropas (Schweiz, Österreich, Süddeutschland, Zentral- und Südostfrankreich) sind als Hyperendemiegebiete mit Fuchsbefallsraten von über 50% bekannt [1]. Diese Verbreitung ergibt sich aus dem Vorkommen des Endwirts dieses Parasiten: für *E. multilocularis* fungiert der Fuchs als Endwirt, für *E. granulosus* der Hund und wildlebende Carnivoren [1]. Mit der erfolgreichen Tollwutbekämpfung und damit verbunden mit der Zunahme der Fuchspopulationen wurden in jüngster Zeit auch in norddeutschen Gebieten Befallsraten der Füchse mit *E. multilocularis* von bis zu 55% festgestellt [20]. Der Entwicklungszyklus von *E. multilocularis* verläuft zwischen dem Fuchs, der als Endwirt den adulten Wurm im Darm trägt und die in den Proglottiden der Würmer heranreifenden Eier mit dem Kot ausscheidet, sowie kleinen Nagetieren als Zwischenwirt. Diese nehmen mit der Nahrung die ausgeschiedenen Eier auf. Nach Stimulierung durch das alkalische Milieu des Duodenums gelangen die geschlüpften Larven über das Pfortadersystem in die Leber, wo sie sich ungeschlechtlich durch Sprossung vermehren und zu einem infiltrativen Tumor, dem Metazestodengewebe, heranwachsen. Der Zyklus wird wieder geschlossen, wenn die befallenen Kleinnager von einem Fuchs gefressen werden und die Larven des Metazestodengewebes zu adulten Würmern differenzieren. Anstelle der Kleinnager kann auch der Mensch als Zwischenwirt treten, wenn er sich durch den Verzehr z.B. ungereinigter und nicht erhitzter Waldfrüchte mit *E. multilocularis*-Eiern infiziert. Fast immer ist die Leber mit dem Metazestodengewebe befallen, nur selten finden sich Herde in der Lunge oder im Gehirn. Prinzipiell gleich verläuft der Entwicklungszyklus von *E. granulosus*, wobei hier als Endwirte Hunde und andere wildlebende Carnivoren fungieren, und als Zwischenwirte Schaf, Rind, Pferd und Kamel auftreten. Auch hier kann der Mensch sich durch orale Aufnahme von Eiern infizieren und zum Zwischenwirt werden. Die Larven vermehren sich jedoch nicht infiltrierend, sondern zystisch abgegrenzt als Hydatide. Bevorzugt ist wiederum die Leber befallen, jedoch finden sich nicht selten auch Zysten in der Lunge, im Gehirn oder in anderen Organen.

Diagnostik der Echinokokkose

Die klinische Symptomatik entspricht der anderer Lebererkrankungen, wie Leberzysten, Lebercarcinom, Zirrhose,

Hämangiome u. a. bildgebende Verfahren können jedoch nicht immer zwischen diesen Erkrankungen und der Echinokokkose differenzieren und müssen deshalb durch eine serologische Diagnostik ergänzt werden.

Weit verbreitet ist der Einsatz von Gesamtantigenen der Hydatidenflüssigkeit von *E. granulosus*- oder *E. multilocularis*-Metazestodenantigenen im indirekten Hämagglutinationstest oder ELISA [21, 22]. Mit dieser Methode ist jedoch keine serologische Differenzierung zwischen einer *E. multilocularis* oder *E. granulosus*-Infektion möglich, da sowohl Patienten mit einer *E. multilocularis*-Infektion als auch mit einer *E. granulosus*-Infektion mit diesem Antigen reagieren. Im Hinblick auf eine serologische Spezies-Differenzierung gelang es Gottstein (23), durch affinitätschromatographische Aufreinigungsschritte eine Antigenfraktion mit der Bezeichnung EM2a aus *E. multilocularis*-Metazestoden-Gesamtantigenen aufzureinigen, die mit einer Spezifität von 95% die Differenzierung einer *E. multilocularis*-Infektion erlaubte [24]. Die Aufreinigung dieser Antigenfraktion ist jedoch aufwendig und erfordert die Haltung von *E. multilocularis*-Metazestodengewebe in geeigneten Labortieren, wie der mongolischen Wüstenspringmaus, *Meriones unguiculatus*. Für *E. granulosus* konnten bislang keine Spezies-spezifischen Antigene für die serologische Diagnostik charakterisiert werden.

Der Einsatz rekombinanter Antigene für die Serodiagnostik der Echinokokkose erscheint demnach vielversprechend. Mit Hilfe der rekombinanten DNA-Technologie konnten in verschiedenen Arbeitsgruppen mehrere *E. multilocularis*-spezifische cDNA-Klone isoliert werden, deren rekombinant exprimierte Antigene mit einer Sensitivität zwischen 82% und 100% und einer Spezifität zwischen 96% und 100% sich als nützlich für serologische Fragestellungen erwiesen haben [25–30]. In unserer Arbeitsgruppe wurde aus einer *E. multilocularis*-cDNA Genbank ein Klon isoliert, mit dessen exprimiertem Protein mit der Bezeichnung EM10 ausschließlich Seren von Patienten mit einer *E. multilocularis*-Infektion, nicht aber mit einer *E. granulosus*-Infektion reagierten [25]. Ferner isolierten wir aus einer cDNA-Genbank des Larvenstadiums von *E. granulosus* einen Klon, der für die 8 kDa-Untereinheit des als Antigen B beschriebenen Proteins der Hydatidenflüssigkeit kodiert [31]. Bei diesem Protein handelt es sich um ein Echinococcus gattungsspezifisch exprimiertes Antigen. Beide Antigene, EM10 und Antigen B, wurden in einem ELISA eingesetzt und ihre diagnostische Wertigkeit mit 74 *E. multilocularis* Patientenserum und 67 *E. granulosus* Patientenserum evaluiert (32). Alle Seren stammten von Patienten mit histologisch gesicherter und differenzierter Echinokokkose und waren serologisch unter Verwendung von Gesamthydatidenantigenen von *E. granulosus* oder Metazestodengewebe im ELISA und/oder indirekten Hämagglutinationstest (22) positiv. 92% der *E. multilocularis*-Patientenserum reagierten mit dem Antigen EM10; alle *E. granulosus*-Patientenserum waren jedoch negativ. Mit dem rekombinanten Antigen B reagierten ebenfalls 92% der *E. granulosus* Patientenserum, aber nur 42% der *E. multilocularis* Patientenserum. Somit läßt sich mit einer 100%igen Spezifität durch serologische Verfahren eine Spezies-Differenzierung vornehmen: Seren mit Reaktivität gegenüber dem Antigen EM10 oder Antigen EM10 und Antigen

B stammen von Patienten mit einer *E. multilocularis*-Infektion, während Patientenserum, die nur mit Antigen B reagieren, eine *E. granulosus*-Infektion erwarten lassen.

Nachweis von *Echinococcus*-spezifischer mRNA aus Gewebsbiopsien

Wie oben geschildert, ist niemals mit einer 100%igen Sensitivität für die serologische Erfassung einer Echinokokkose zu rechnen, auch wenn die serologischen Tests mit den homologen Gesamtantigenen durchgeführt werden. Da aber bildgebende Verfahren allein ebenfalls nicht in allen Fällen die Diagnosestellung einer Echinokokkose erlauben, wäre ein Nachweis des Parasiten oder Teile davon in Fällen mit negativer Serologie überaus wünschenswert. Wir haben aus diesem Grund ein mRNA-Nachweissystem etabliert, das auf dem Nachweis der mRNA des EM10-Gens über eine reverse PCR [10] beruht. Ausgehend von der Gesamt-RNA des Parasiten (Abb. 1) wird die mRNA über Oligo-dT-Säulen aufgereinigt, mit Hilfe einer reversen Transkriptase in cDNA umgeschrieben und diese mit EM10-spezifischen Oligonukleotid-Primern mittels der Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert. Dieses Verfahren wurde soweit optimiert, daß der mRNA-Nachweis schon aus Feinnadelbiopsien geführt werden kann. Dieses reverse-PCR Verfahren bietet gegenüber dem Nachweis von Echinokokken-DNA den Vorteil, daß nicht nur der Parasit selbst darstellbar ist, sondern daß zugleich eine Aussage über dessen Vitalität getroffen werden kann. Dies ist insofern bedeutsam, da Spontanheilungen von *E. multilocularis*-Infektionen beschrieben wurden [33], im Gewebe persistierende DNA aber über einen längeren Zeitraum vorhanden sein kann und einmal gebildete Antikörper u. U. lebenslang persistieren. Ferner würde der Nachweis von mRNA die Möglichkeit eröffnen, den Erfolg einer antiparasitären Therapie, wie sie mit Mebendazol oder Albendazol möglich ist, zu kontrollieren, da die mRNA-Bildung an den lebenden Parasiten gekoppelt ist.

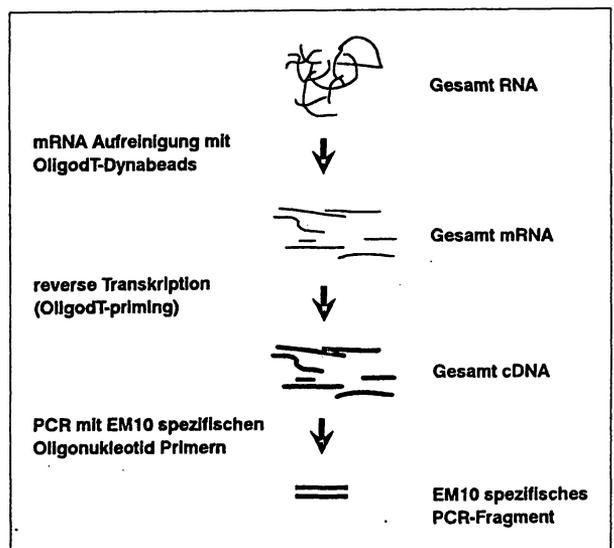


Abb. 1: Schema zum Nachweis von EM10 spezifischer mRNA durch reverse PCR.

Wir hatten Gelegenheit, dieses Verfahren bei der Diagnostikstellung einer Echinokokkose bei einer 20jährigen Patientin zu erproben. Bei dieser Patientin war eine Raumforderung in der Leber festgestellt worden, die an ein verkalktes Hämangiom sowie differentialdiagnostisch an eine Echinokokkose, hervorgerufen durch *E. multilocularis*-denken ließ. Serologisch konnte der Verdacht einer Echinokokkose nicht bestätigt werden, die Patientin hatte keine Antikörper gegen *E. multilocularis*-Metazestodentantigen oder die oben beschriebenen rekombinanten Antigene. Mit Hilfe der reversen PCR konnte EM10 mRNA allerdings in einer Feinnadelbiopsie nachgewiesen werden. Die somit gestellte Diagnose einer Echinokokkose konnte nach durchgeführter Operation durch histologische Aufarbeitung des Operationspräparates bestätigt werden, es handelte sich um eine *E. multilocularis*-Infektion.

Ausblick

Molekularbiologische Verfahren haben erst relativ spät Eingang in das Gebiet der Medizinischen Parasitologie gefunden, nachdem diese Techniken schon lange in der Virologie und Bakteriologie neue Möglichkeiten der Diagnostik von Infektionskrankheiten eröffnet und Einblick in deren Pathogenese ermöglicht hatten. Die in dieser Übersicht dargestellten Entwicklungen zur Verbesserung der Diagnostik von in unseren Breiten bedeutsamen Parasitosen sollten beispielhaft für viele molekularbiologisch-parasitologischen Fragestellungen stehen, die nicht nur die Verbesserung der Diagnostik zum Ziel haben, sondern künftig auch wesentlich zum Verständnis der Pathogenese von parasitären Infektionskrankheiten, sowie zu deren Prävention und Therapie beitragen werden.

Literatur:

1. Rommel, M. (1992) Umwelthygienische Aspekte der Echinokokkose. Dtsch. tierärztl. Wschr. 99, 273-312.
2. Kimmig, P., Schelling, U. (1991) Aktuelle Probleme der Echinokokkose (*Echinococcus multilocularis*). Öff. Gesundh.-Wes. 53, 596-599.
3. Remington, J. S., Desmonts, G. (1976) Toxoplasmosis. In: Infectious diseases of the fetus and newborn infant (Remington, J. S., Klein, K. O., eds.). W. B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 191-332.
4. Derouin, F., Mazeron, M. C., Garin, Y. J. F. (1987) Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. J. Clin. Microbiol. 25, 1597-1600.
5. Müller, W. A., Wohlfahrt, A., Koch, G., Lauf, H., Becker, K., Borkhardt, H.-L. (1989) Nachweis von zirkulierendem Toxoplasma-Antigen in Patientenserum mit monoklonalen Antikörpern in einem Enzymimmunoassay. Z. Klin. Med. 44, 1943-1946.
6. van Kampen, F., Panggabean, S. O. (1977) Detection of circulating antigen during acute infections with *Toxoplasma gondii* by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 6, 545-547.
7. Suzuki, Y., Kobayashi, A. (1985) Detection of circulating antigen by latex particles coated with anti-toxoplasma antibodies during acute infections with *Toxoplasma gondii* in mice. Jpn. J. Parasitol. 34, 149-153.
8. Burg, J. L., Perlman, D., Kasper, L. H., Ware, P. L., Boothroyd, J. C. (1989) Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 27, 1787-1792.
9. Savva, D., Morris, J. C., Johnson, J. D., Holliman, R. E. (1990) Polymerase chain reaction for detection of *Toxoplasma gondii*. J. Med. Microbiol. 32, 25-31.
10. Myers, T. W., Gelfand, D. H. (1991) Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. Biochemistry 30, 7661-7666.
11. Janitschke, K. (1991) Empfehlungen zur Vorgehensweise bei der Untersuchung auf Toxoplasma-Antikörper in der Schwangerschaft und Kindervorsorge. Lab. Med. 15, 447-449.

12. Groß, U., Roos, T., Appoldt, D., Heesemann, J. (1992) Improved serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection by detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against P30 by using the immunoblot technique. J. Clin. Microbiol. 30, 1436-1441.
13. Johnson, A. M., Gu, Q. M., Roberts, H. (1987) Antibody patterns in the serological diagnosis of acute lymphadenopathic toxoplasmosis. Aust. N.Z. J. Med. 17, 430-434.
14. Sabin, A. B., Feldman, H. A. (1948) Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoal parasite. Science 108, 660-663.
15. Araujo, F. G., Barnett, E. V., Gentry, L. O., Remington, J. S. (1971) False-positive anti-toxoplasma fluorescent-antibody tests in patients with antinuclear antibodies. Appl. Microbiol. 22, 270-273.
16. Budzko, D. B., Tyler, L., Armstrong, D. (1989) Fc receptors on the surface of *Toxoplasma gondii* trophozoites, a confounding factor in testing for anti-toxoplasma antibodies by indirect immunofluorescence. J. Clin. Microbiol. 27, 959-961.
17. Duffy, K. T., Wharton, P. J., Johnson, J. D., New, L., Holliman, R. E. (1989) Assessment of an immunoglobulin-M immunosorbent agglutination assay (ISAGA) for the detection of toxoplasma specific IgM antibodies. J. Clin. Pathol. 42, 1291-1295.
18. Fuccillo, D. A., Madden, D. L., Tzan, N., Sever, J. L. (1987) Difficulties associated with serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections. Diagn. Clin. Immunol. 5, 8-13.
19. Becker, K., Frosch, P., Koch, G., Müller, W., Frosch, M. (1993) A recombinant *Toxoplasma gondii* trophozoite antigen for serological differentiation between acute and chronic toxoplasma infections. Manuscript in preparation.
20. von Keyserlingk, M., Welzel, A. (1992) Kein Grund zur Panik. Niedersächsischer Jäger, 15, 796-800.
21. Gottstein, B. (1992) Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. Clin. Microbiol. Rev. 5, 248-261.
22. Knobloch, J., Lederer, I., Mannweiler, E. (1984) Species-specific immunodiagnosis of human echinococcosis with crude antigens. Eur. J. Microbiol. 3, 554-555.
23. Gottstein, B., Eckert, J., Fey, H. (1983) Serological differentiation between *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis* infections in man. Z. Parasitenkd. 69, 347-356.
24. Gottstein, B., Schantz, P. M., Todorov, T., Saimot, A. G., Jaquier, P. (1986) An international study on the serological differential diagnosis of human cystic and alveolar echinococcosis. WHO Bull. 64, 101-105.
25. Frosch, P. M., Frosch, M., Pfister, T., Schaad, V., Bitter-Suermann, D. (1991) Cloning and characterisation of an immunodominant major surface antigen of *Echinococcus multilocularis*. Mol. Biochem. Parasitol. 48, 121-130.
26. Frosch, P. M., Geier, C., Kaup, F.-J., Müller, A., Frosch, M. (1993) Molecular cloning of an echinococcal microtrichial antigen immunoreactive in *E. multilocularis* disease. Mol. Biochem. Parasitol. 58, 301-310.
27. Hemmings, L., McManus, D. P. (1989) The isolation, by differential antibody screening, of *Echinococcus multilocularis* antigen gene clones with potential for immunodiagnosis. Mol. Biochem. Parasitol. 33, 171-182.
28. Hemmings, L., McManus, D. P. (1991) The diagnostic value and molecular characterization of an *Echinococcus multilocularis* antigen gene clone. Mol. Biochem. Parasitol. 44, 53-62.
29. Müller, N., Gottstein, B., Vogel, M., Flury, K., Seebeck, T. (1989) Application of a recombinant *Echinococcus multilocularis* antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of human alveolar echinococcosis. Mol. Biochem. Parasitol. 36, 151-159.
30. Vogel, M., Gottstein, B., Müller, N., Seebeck, T. (1988) Production of a recombinant antigen of *Echinococcus multilocularis* with high immunodiagnostic sensitivity and specificity. Mol. Biochem. Parasitol. 31, 117-125.
31. d'Amelio, R., Pontesilli, O., Dayal, R., de-Rosa, F., Barnett, M., Teggi, A., Brighouse, G., Lambert, P. H. (1985) Characterization of parasite antigens from human hydatid cyst fluid by SDS-PAGE and IEF. Med. Microbiol. Immunol. 174, 43-50.
32. Helbig, M., Frosch, P., Mannweiler, E., Kern, P., Frosch, M. (1993) Serological differentiation between cystic and alveolar echinococcosis by use of recombinant larval antigens. Manuscript in preparation.
33. Rausch, R. L., Wilson, J. F., Schantz, P. M., McMahon, B. J. (1987) Spontaneous death of *Echinococcus multilocularis*: cases diagnosed serologically by EM2-ELISA and clinical significance. Am. J. Trop. Med. Hyg. 36, 576-585.

Anschrift des Verfassers:

PD Dr. med. Matthias Frosch
 Institut für Medizinische Mikrobiologie
 Medizinische Hochschule Hannover
 Konstanty-Gutschow-Straße 8
 30623 Hannover

Konzeption und Realisierung eines Laborinformationssystems auf PC-Netzwerkbasis mit Integration in ein Krankenhausinformationssystem

Conception and realization of a laboratory information system based on a local area network of personal computers integrated in a hospital information system

L. Volbracht, D. Paar

Abteilung für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik des Zentrum für Innere Medizin, Universitätsklinikum Essen

Zusammenfassung:

Es wird über die Konzeption und Realisierung eines Laborinformationssystems auf PC-Netzwerkbasis mit Integration in ein Krankenhausinformationssystem am Universitätsklinikum Essen berichtet.

Im einzelnen werden das Konzept der Hardwarekonfiguration des Token-Ring-PC-Netzwerks mit Client-Server-Architektur und die Anbindung des Netzwerks an den zentralen Großrechner, der die Anwendungen des Krankenhausinformationssystems unterstützt, erläutert. Diese PC-Host-Anbindung gestattet es, Teilfunktionen des Laborinformationssystems im Krankenhausinformationssystem zu verwirklichen.

Wesentliche Vorteile der Einbindung des Laborinformationssystems in das Krankenhausinformationssystem sind:

- die Leistungsanforderung am Bildschirm auf Station,*
- die Möglichkeit des online-Zugriffs der Station auf Laborbefunde,*
- die elektronische Befundübermittlung und der Befundausdruck auf Station,*
- die erleichterte Plausibilitätskontrolle von Laborbefunden durch Zugriff auf die klinische Patientendatenbank des Krankenhausinformationssystems.*

Schlüsselwörter:

Laborinformationssystem – Krankenhausinformationssystem – PC-Netzwerk – Client-Server-Konzept – Leistungsanforderung am Bildschirm

Summary:

This report focuses on the conception and realization of a laboratory information system using a local area network of personal computers integrated in a hospital information system at the University Clinic of Essen.

In particular the configuration of the local area network with token ring topology, client server architecture, and PC-host connectivity to the central mainframe computer using the software of the hospital information system are described.

This PC-host connectivity makes it possible to perform particular operations of the laboratory information system as applications of the hospital information system.

Integration of the laboratory information system in the hospital information system has the following advantages:

- electronic test ordering at the wards,*
- electronic access to laboratory results at the wards,*
- transmission of test results to terminals located at the wards and enhanced report options,*
- improved plausibility checks of laboratory results through electronic access to patient clinical database of the hospital information system.*

Keywords:

laboratory information system – hospital information system – local area network – client-server concept – order entry system

Einleitung

Der Einsatz eines Krankenhausinformationssystems [1–11] dient dazu, die Zusammenarbeit zwischen Fachabteilungen, Funktionsbereichen und im gesamten Krankenhaus zu erleichtern. Neben der Kommunikation wird hierbei auch eine Steuerung der Arbeitsabläufe und die Schaffung eines gemeinsamen Informationsstands realisiert. Die Einbindung [12] eines Labordatenverarbeitungssystems in ein Krankenhausinformationssystem eröffnet neue Formen der Kommunikation zwischen Labor und Station [13]. Das integrierte Laborinformationssystem muß hierbei als Teilkomponente des Krankenhausinformationssystems betrachtet werden. Funktionen wie die Leistungsanforderung am Bildschirm auf Station [14–17], die elektronische Befundübermittlung und -speicherung [18], die Befundabfrage am Bildschirm und der Befundausdruck auf Station [19–21] sind dann *gemeinsame* Anwendungen des Laborinformationssystems und des Krankenhausinformationssystems. Trotz dieser gemeinsamen Aufgaben ist es sinnvoll, die Funktionen, die nur der Unterstützung *innerhalb* des Labors dienen, als eigenständige EDV-Einheit zu realisieren (verteilte Datenbanksysteme). Der Funktionsumfang und die Anforderungen an ein solch eigenständiges Labor-EDV-System sind inzwischen weitgehend standardisiert [22–24]. Vorteile der dezentralen Datenverarbeitung mit eigenständigen Subsystemen, die miteinander durch definierte Schnittstellen verknüpft sind [25], liegen in der einfacheren und flexibleren Handhabung der Datenhaltung und -pflege (Datenverarbeitung beim Endbenutzer, „End-User-Computing“). Hierfür werden zunehmend PC-Netzwerke (Local Area Networks, LAN) eingesetzt, die den Zugriff auf eine gemeinsame Datenbank und die Nutzung gemeinsamer Ressourcen erlauben [26].

Im folgenden wird die Konzeption und Realisierung eines integrierten Laborinformationssystems auf PC-Netzwerkbasis am Universitätsklinikum Essen dargestellt.

Konzeption der Hardwarekonfiguration

Im Neubau des Operativen Zentrums II des Universitätsklinikums Essen wurde 1990 ein Krankenhausinformationssystem (Klassik, IBM Deutschland, Update Kulmbach) auf Großrechnerbasis (IBM 4381) implementiert. Folgende Nutzer werden unterstützt: die Krankenstationen der Abteilungen für Allgemein- und Unfallchirurgie sowie die Neurochirurgische Klinik einschließlich der jeweiligen Polikliniken und Intensivstationen, das Institut für Anästhesiologie, das Röntgendiagnostische Zentralinstitut, das Institut für Transfusionsmedizin, die Physikalische Therapie und das Zentrale Klinisch-Chemische Bereitschaftslabor der Abteilung für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik.

Im Laborbereich entschieden wir uns für die Installation eines eigenständigen Subsystems in PC-Netzwerktechnik (IBM Token Ring).

Labor-EDV-Systeme auf PC-Netzwerkbasis bieten durch ihre Flexibilität und Unabhängigkeit von der vergleichs-

weise starren Großrechnerumgebung viele Vorteile. Hierzu zählen vor allem die gemeinsame Nutzung kostspieliger Peripherie (wie z.B. hochwertiger Drucker) und die mögliche Nutzung der großen Auswahl von bestehenden Softwareapplikationen. So können Daten der Labor-EDV in gewohnte Textverarbeitung, Grafik- oder Tabellenkalkulationsprogramme übernommen werden. Graphische Benutzeroberflächen erleichtern den Zugang zum System und erhöhen die Akzeptanz bei den Nutzern. Die Wahl des MS-DOS kompatiblen Betriebssystems OS/2 ermöglicht einen Multitasking-Betrieb, d.h. den asynchronen Betrieb mehrerer Programme auf demselben PC.

Die Client-Server Architektur des PC-Netzwerkes gestattet eine sinnvolle Arbeitsteilung: der Server ist für die Datenverwaltung und -speicherung zuständig, Datenabfragen werden vom Benutzer im Anwendungsprogramm auf seiner Arbeitsstation formuliert. Im Client-Server Betrieb werden also nur Anfragen und Ergebnisse über das Netz geschickt. Hierdurch wird der Netzverkehr erheblich reduziert.

Die Einbindung des lokalen Netzwerkes in die Gesamt-EDV erfolgt mit Hilfe des IBM Communications Manager. Der Benutzer des PC-Netzwerkes kann zwischen dem HOST-Bildschirm (3270 Terminal Emulation) des Krankenhausinformationssystems und der Laboranwendungssoftware schnell hin und her wechseln.

Für den Transfer der Daten zwischen PC-Netzwerk und HOST wird der Industriestandard „High Level Language Application Interface“ (HLLAPI) benutzt.

Die PC-HOST-Anbindung ermöglicht die zukünftige weitere Vernetzung von am Universitätsklinikum Essen räumlich entfernt liegenden Gebäuden (Abb. 1), so daß die geplante Kopplung des räumlich getrennt untergebrachten Zentrallabors der Abteilung für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik und auch weiterer klinischer Zentren möglich wird.

Hardware

Das Krankenhausinformationssystem Klassik wird auf einem IBM 4381 Q 13 Rechner mit 24 MB Hauptspeicher betrieben. 9 Plattenlaufwerke mit je 10,6 GB, 2 Magnetbandeinheiten, 5 Cluster Controller (IBM 3174) und 1 Communication Controller (IBM 3720) sind weitere Komponenten des HOST-Rechners. Zur Zeit sind 90 Terminals und Personal Computer und 30 Drucker im Klinikneubau Operatives Zentrum II angeschlossen.

Die bisherige Kopplung des Mainframe an den räumlich entfernten Verwaltungsrechner über Telefonleitungen mittels Modem wird zur Zeit durch den Einsatz eines schnellen Lichtwellenleiters mit Übertragungsgeschwindigkeiten von 100 Mbit/s erneuert.

Das PC-Netzwerk für das Laborinformationssystem besitzt Token Ring Topologie mit geschirmter Twisted Pair Verkabelung und 16 MBit/s Übertragungsgeschwindigkeit.

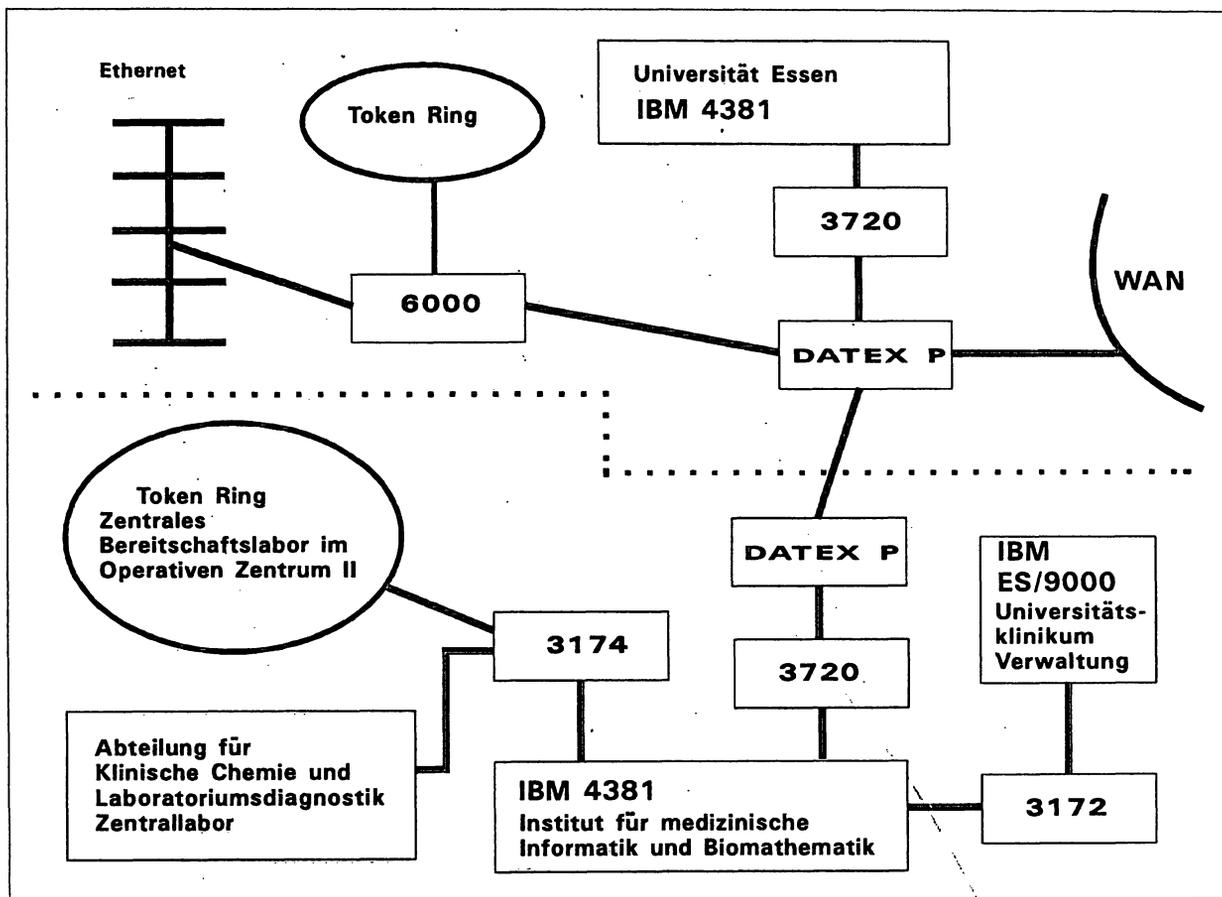


Abb. 1: EDV-Konfiguration am Universitätsklinikum Essen. Erläuterung: 3720 [IBM 3720 Communication Controller, Kommunikationssteuereinheit], 3174, 3172 [IBM 3174, 3172 Cluster Controller, Steuereinheit z.B. für Terminals], 6000 [IBM Rechner RISC 6000], DATEX-P [Teil des integrierten Text- und Datennetzes (IDN) der Telecom] IBM 4381, ES/9000 [IBM 4381, ES/9000 Großrechner], WAN [World Area Network, Weitverkehrsnetz]

Zur Zeit sind 5, mit Farbmonitoren ausgestattete, in verschiedenen Räumen des Labors lokalisierte Personal-Computer IBM PS/2 miteinander vernetzt. Der File-Server-PC (486-Intel Prozessor mit 33 MHz Taktfrequenz) ist mit einem Hauptspeicher von 18 MB und einer Festplatte von 300 MB ausgestattet.

Software

Die Einbindung des Laborinformationssystems in das Krankenhausinformationssystem machte eine zweiseitige Installation der Labor-EDV-Software notwendig: so sind Teile der Stammdaten, die Leistungsanforderungsmasken, die online-Befundabfrage und die Befundausgabe des Laborinformationssystems sowohl im HOST als auch im PC-Netzwerk vorhanden.

Als Betriebssystem des HOSTs wird VSE/SP mit Transaktionsmonitor CICS/DOS/VS eingesetzt. Die neu ent-

wickelte Anwendungssoftware des Krankenhausinformationssystems wird mit PCS/ADS-Tools (IBAX, USA) realisiert. Zugriffe im Batch-Modus auf die hierarchisch strukturierte Datenbank DL/1-DB werden mit COBOL/DL1 programmiert. Nach Konvertierung der Daten des Krankenhausinformationssystems ist eine SQL-Abfrage möglich.

Das PC-Netzwerk nutzt OS/2 als Betriebssystem und zur Zeit den IBM LAN-Server 1.3 als Netzwerksoftware. Den Zugriff zur ISAM-Datenbank ermöglicht der Btrieve Record Manager 5.1. Die am Universitätsklinikum Essen in Zusammenarbeit mit den Nutzern neu entwickelte Anwendungssoftware (Update, Kulmbach) für das Laborinformationssystem ist in der Programmiersprache C geschrieben. Die SQL-Schnittstelle gestattet innerhalb des PC-Netzwerkes den Einsatz des OS/2 Extended Edition Database Managers mit der graphischen Benutzeroberfläche des IBM Query Managers.

Datensicherheit

Eine tägliche Datensicherung der Anforderungsdatenbank auf eine zweite Festplatte sowie Programme zur Datenbankpflege verhindern Datenverluste im Labor-PC-Netzwerk. Weiterhin wird eine Speicherung von allen Laborbefunden eines Zeitraumes von mehreren Jahren im HOST-Rechner des Krankenhausinformationssystems vorgenommen.

An- und Abmeldeprozeduren im HOST-Rechner gewährleisten die Sicherheit des Systems. Ein nicht autorisierter Zugriff auf Daten im Krankenhausinformationssystem wird durch abgestufte Paßwortvergabe verhindert.

Anforderung am Bildschirm auf der Station

Die Leistungsanforderungen erfolgen durch das Pflegepersonal dialogorientiert an den Bildschirmen der insgesamt 90 Terminals auf den einzelnen Krankenstationen und Polikliniken. Diese Vorgehensweise bietet ein Höchstmaß an Flexibilität; zum Beispiel kann bei der Leistungsanforderung für jedes einzelne Verfahren ein vom Labor formulierter individueller Hinweistext sichtbar gemacht werden. Hierdurch kann das Labor z.B. auf wiederholte Fehlanforderungen wegen falscher Probengefäßwahl oder fehlerhafter Blutabnahmebedingungen schnell und wirksam reagieren. Diese verfahrensspezifischen Hinweistexte für die Leistungsanforderung lassen sich ohne Programmieraufwand erstellen.

Eine Änderung des Leistungskatalog des Labors erfordert bei der allgemein üblichen Nutzung von maschinenlesbaren Anforderungskarten einen Neudruck der Anforderungsbelege. Dieser zeitaufwendige und teure Formularneudruck entfällt bei dem von uns realisierten Einsatz einer Leistungsanforderung am Bildschirm. Änderungen des Leistungskatalogs erfordern lediglich eine vom Laborpersonal einfach durchzuführende Erweiterung der Stammdaten.

Die Anforderung am Bildschirm erfolgt maskenorientiert für alle Verfahren oder nach Verfahrensauswahllisten.

Auswahllisten der Verfahren können individuell auf die Bedürfnisse der jeweiligen Station oder Poliklinik abgestimmt werden. Eine vom Labor für die einzelne Station erstellte Liste der am häufigsten anzufordernden Verfahren mit frei definierbarer Reihenfolge am Bildschirm läßt sich jederzeit verändern.

Die Anforderung von Spezialuntersuchungen kann verfahrensspezifisch mit dem Hinweis „Rücksprache erforderlich“ entweder ganz gesperrt oder in Abhängigkeit von der Stufe der Autorisation (Paßwort) des Anfordernden ermöglicht werden.

Die Laboranforderungen durch das Stationspersonal erfolgen patientenorientiert. In einem Arbeitsablauf sind für einen einzelnen Patienten die Radiologieanforderung, die Anforderung für die physikalische Therapie, die Anforderung für das Institut für Transfusionsmedizin und die Dateneingabe für die medizinische Dokumentation möglich.

Probenidentifikation

Nach Ablauf der Leistungsanforderung wird automatisch ein Probenmaterial-Begleitschein vom Stationsdrucker erstellt. Aus diesem Begleitschein sind die Stammdaten des Patienten, die angeforderten Verfahren, die Art des Probenmaterials, die Probenentnahmezeit und die Art der Anforderung (Routine oder Notfall) ersichtlich. Bei einer Betriebsstörung des Kommunikationssystems kann dieser Begleitschein auch als Anforderungsbeleg für eine nicht EDV-gestützte Arbeitsweise dienen.

Das Probengefäß wird vom Pflegepersonal mit einem maschinenlesbaren Etikett (Barcode Typ Codabar) beklebt, auf dem der Patientename, eine eindeutige sechsstellige Fallnummer und der Stationsname aufgedruckt sind. Die barcodierten patientenspezifischen Etiketten werden auf der Station ausgedruckt. Sie dienen nicht nur der Laboranforderung, sondern auch für Anforderungen bei allen übrigen Leistungsstellen.

Datentransfer der Stationsanforderungen in die Labor-EDV

Der Transfer der Anforderungsdaten vom Kommunikationssystem in das Labor-PC-Netzwerk erfolgt automatisch in vom Labor frei definierbaren Zeitabständen.

Die bei Einsatz von maschinenlesbaren Anforderungskarten nie ganz zu vermeidenden Erfassungsfehler durch falsche Bearbeitung der Karten durch die anfordernde Stelle (z.B. fehlerhafte Strichmarkierung) entfallen bei der Bildschirmanforderung mit anschließender unmittelbarer Übertragung der Daten in die Labor-EDV.

Der Transfervorgang kann hierbei getrennt nach Routine- und Notfallanforderungen in Gang gesetzt werden.

Notfallanalysen können automatisiert und kontinuierlich in 5minütigen Abständen in das Labor-PC-Netzwerk übertragen werden.

Für Routineanforderungen ist es zweckmäßig, diesen „Download“ nachts durchzuführen, zum Beispiel um 3:00 Uhr morgens. Um 5000 angeforderte Routine-Analysen in das Laborsubsystem zu laden, wird ein Zeitraum von etwa 45 Minuten benötigt.

Da der Zeitabstand der Downloadzeiten frei wählbar ist, kann auch der Annahmeschluß für die Routineanforderungen variabel festgelegt werden.

Nach Abschluß des Downloads wird im Labor eine Anforderungsstatistikliste ausgedruckt, aus der die Anzahl der einzelnen angeforderten Verfahren ersichtlich ist.

Durch die Trennung des Probentransports zum Labor von der Übermittlung der Leistungsanforderung in die Labor-EDV wird Zeit gewonnen für die individuelle Vorbereitung der Arbeitsplätze in Abhängigkeit von den jeweils tatsächlichen Tagesanforderungen. So können auch schon die Arbeitslisten vor Eintreffen der Proben im Labor ausgedruckt werden.

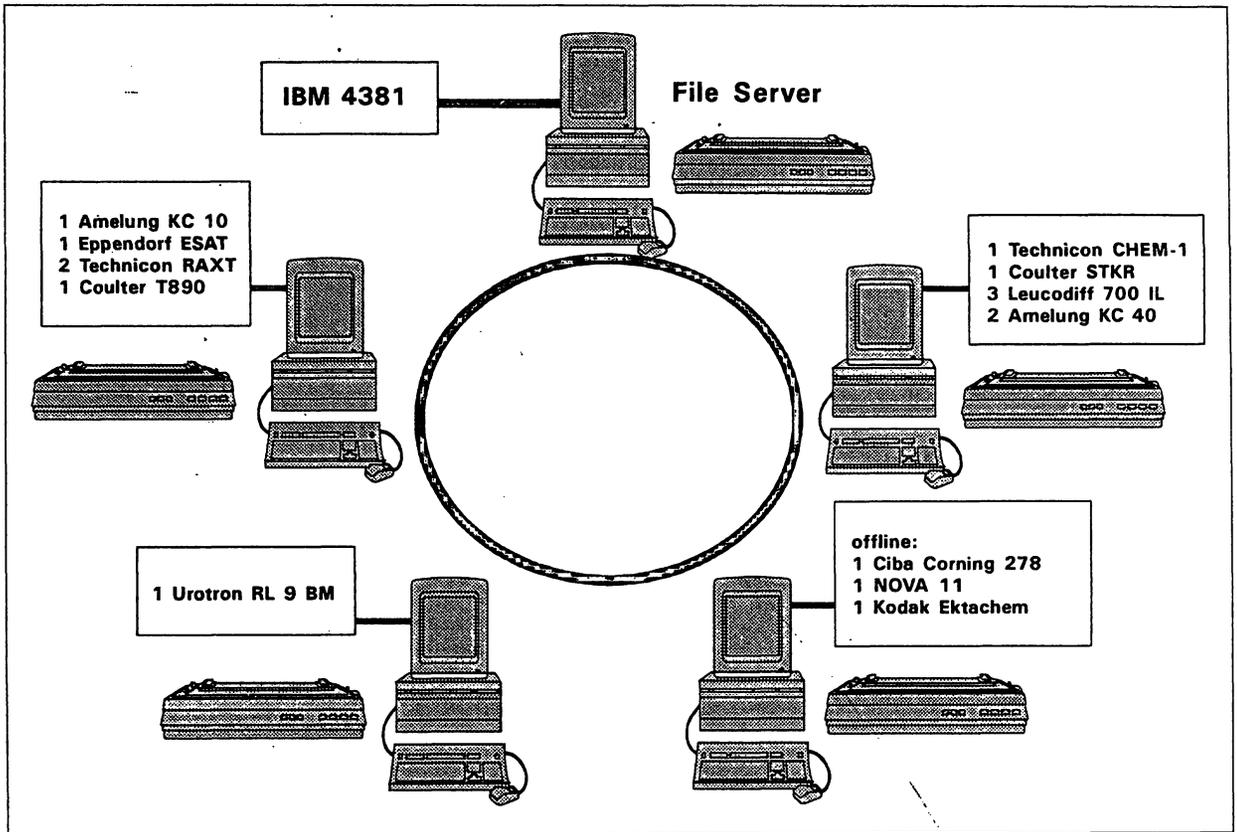


Abb. 2: Schematische Darstellung des Token-Ring-PC-Netzwerks im Zentralen Bereitschaftslabor des Universitätsklinikum Essen mit Angabe der zur Zeit realisierten online-Analysengeräteanschlüsse und Darstellung der PC-Host-Anbindung. Erläuterung: IBM 4381 [zentraler IBM 4381 Großrechner, auf dem das Krankenhausinformationssystem implementiert ist]

Probenbearbeitung mit online-Meßdatenerfassung im Labor

Das „Multitasking-fähige“ Betriebssystem OS/2 auf dem PC-Netzwerk mit der Betriebsmöglichkeit von mehreren asynchron laufenden Programmen auf demselben PC erleichtert die online Meßdatenerfassung, da mehrere Analysengeräte gleichzeitig an denselben PC angeschlossen werden können (Abb. 2). Während im Hintergrund die online-Meßdatenerfassung in voneinander unabhängigen und am Bildschirm überwachbaren Prozessen erfolgt, sind zur gleichen Zeit auch Datenabfragen und -eingaben sowie Druckaufträge durchführbar.

Wenn es die Ausstattung der Analysengeräte zuläßt, werden die Patienten- und Qualitätskontrollproben nach Möglichkeit mit positiver Probenidentifikation im Gerät und im bidirektionalen Modus bearbeitet. Bei lediglich unidirektionaler Übertragung vom Analysengerät zur Labor-EDV und positiver Probenidentifikation können zwar keine individuellen Anforderungen für die Probe an das Gerät übermittelt werden, was sich jedoch bei Analysen, die in der Regel als Profilanforderung (z.B. Blutbilder) erfolgen, nicht als Nachteil erweist.

Bei Analysengeräten, die keine Möglichkeit der positiven Probenidentifikation besitzen, besteht die Möglichkeit der sequentiellen online-Meßdatenerfassung. Die offline Meßdatenerfassung wird nach Möglichkeit vermieden und nur durchgeführt, wenn die Analysengeräte keine EDV-Schnittstelle besitzen oder die tägliche Anzahl der ermittelten Laborergebnisse sehr gering ist.

Zum jetzigen Zeitpunkt erfolgt bei etwa 95% der bei uns EDV-unterstützt durchgeführten Analysen (ca. 3000–5000 pro Tag) eine online-Meßdatenerfassung.

Bildschirmunterstützte Ergebnis- und Plausibilitätskontrolle

Im Anschluß an die Meßwerterfassung werden alle Laborergebnisse einer automatisierten umfangreichen Wertprüfung durch die Labor-EDV innerhalb des PC-Netzwerks unterzogen. Diese erste Wertprüfung (Teil der technischen Validierung) gestattet es, nur einen Teil aller Tagesbefunde gezielt zur weiteren Überprüfung vorübergehend zurückzuhalten. Die Wertprüfung erfolgt im real-time Modus: jeder erfaßte Meßwert wird sofort einer Vorwertüberprüfung und einer Extremwertkontrolle unterzogen.

Bei der Vorwertüberprüfung (Delta-Check) darf das Ergebnis nur um einen bestimmten, verfahrensspezifischen Anteil vom Vorwert abweichen. Wird diese Bedingung nicht erfüllt, bleibt das Laborergebnis bis zur Freigabe durch den Laborarzt vorübergehend gesperrt. Bei der Extremwertkontrolle findet eine Einstufung des erfaßten Laborergebnisses in verfahrens-, alters- und geschlechtsabhängige Norm- und Warngrenzen statt; sie dient dazu, hoch pathologische Werte und Extremwerte, die einen lebensgefährlichen Zustand des Patienten anzeigen, sofort zu sperren.

Zur Auswertung der Ergebnisse der routinemäßig mitgeführten Qualitätskontrollproben steht ein an den Richtlinien der Bundesärztekammer orientiertes spezielles Programm zur Verfügung.

Zu jedem Zeitpunkt lassen sich Abfragen nach Patientenergebnissen mit verschiedenen vom Nutzer *frei kombinierbaren* Suchkriterien durchführen: z.B. Datum, Meßwert-Bearbeitungsstand (z.B. angefordert, erfaßt, freigegeben, gesperrt, übermittelt), Arbeitsplatz, Verfahren, Station, Patientenname, Werteinstufung in spezielle Bereichsgrenzen, Überschreiten des Delta-Limits usw. Nach Darstellung am Bildschirm der so ausgewählten Tagesdaten mit dem letzten zugehörigen Vorwert ist auch eine sofortige gezielte Vorwertbetrachtung über einen längeren Zeitraum möglich, ohne die nach diesen speziellen Suchkriterien durchgeführte Datenabfrage verlassen zu müssen. Die Kombination der Suchkriterien erfolgt mit Hilfe einer leicht zugänglichen Benutzeroberfläche mit Einsatz von Pull-down Menüs und Fenstertechnik.

Während der Validierung am Bildschirm zusätzlich abrufbare klinische Daten der Patienten aus dem Krankenhausinformationssystem (zur Zeit z.B. Diagnosen, Angaben zur Therapie auf der anästhesiologischen Intensivstation, Daten zur OP-Planung und -Dokumentation der Abteilung für Allgemeinchirurgie usw.), können die laborärztliche Plausibilitätskontrolle der Ergebnisse erleichtern (Abb. 3). Hierbei erweist es sich als Vorteil, daß die im Labor stattfindende Datenabfrage an das Krankenhausinformationssystem am selben PC erfolgen kann und der Nutzer nur zwischen zwei Bildschirmen wechseln muß (Multitasking-Fähigkeit von OS/2), ohne daß die gerade stattfindende Datenabfrage an das Laborinformationssystem des PC-Netzwerks beendet werden muß.

Weiterhin sind zur Befundkommentierung Textkürzel verfügbar und auch freie Texteingaben möglich.

Zeitgerechte Befundübermittlung

Durch den Einsatz eines Krankenhausinformationssystems wird eine zeitgerechte Befundübermittlung gewährleistet, was für den klinischen Auftrag eines Krankenhauslaboratoriums von hoher Bedeutung ist und insbesondere für intensivmedizinische Stationen große Vorteile bietet. Da rechnerunterstützt freigegebene Befunde sofort in das Krankenhausinformationssystem übertragen werden und für die Stationen am Bildschirm abrufbar sind bzw. ausgedruckt werden können, läßt sich die auch für die Routine-Anforderungen ansonsten übliche aber fehleranfällige

telefonische Übermittlung von Teilbefunden zur Station erheblich reduzieren. Sie bleibt daher als zusätzliche Maßnahme auf solche Fälle begrenzt, die ein sofortiges diagnostisches und therapeutisches Eingreifen erfordern.

Elektronische Post

Ein electronic mail System (elektronische Post) ermöglicht den Versand von Nachrichten zwischen Labor und den Stationen sowie auch zwischen den einzelnen Stationen. Hierbei können eine einzelne Station oder auch alle Stationen gleichzeitig angewählt werden. Der Zugang zum elektronischen Briefkasten ist durch abgestufte Paßwortvergabe gesichert. Die empfangenen Nachrichten können quitiert, gespeichert und ausgedruckt werden.

Einzelbefunde oder auch allgemeine Hinweise zur aktuellen Labororganisation lassen sich auf diese Weise schnell und einfach versenden.

Befundabfrage am Bildschirm im gesamten Krankenhausbereich

Sobald die Laborbefunde eines Patienten in das Kommunikationssystem übertragen worden sind, sind diese Daten von allen Terminals und Personal Computern im gesamten Krankenhausbereich nach entsprechenden datenschutzrelevanten Anmeldeprozeduren abfragbar. Die Datenabfrage auf Station kann hierbei nach verschiedenen Suchkriterien erfolgen (z.B. Station, Datum, Leistungsstelle, Bearbeitungsstand, Verfahren, Patientenname usw.). Für jede einzelne Laboranforderung sind die Uhrzeit der Anforderung und die Uhrzeit des Empfangs des Laborergebnisses auf Station am Bildschirm und auf dem Befundausdruck ersichtlich.

Die umfangreichen online-Befundabfragemöglichkeiten erweisen sich als Hilfe bei diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen, die einen Transport des Patienten innerhalb des Krankenhauses erforderlich machen (Funktionsdiagnostik, Röntgendiagnostik, OP-Bereich, Polikliniken usw.).

Befundausdruck auf Station

Der Befundausdruck auf den Stationen, in den Polikliniken und in den Funktionsbereichen wird durch das Pflegepersonal initiiert; das Laborpersonal wird hierdurch von der Tätigkeit des Befundausdrucks im Labor und der anschließenden Sortierung und Verteilung der Befunde in die Stationsfächer entlastet.

Es ist auch möglich, den Tages-Befundausdruck auf Station *Uhrzeit-abhängig* durchzuführen: nach Eingabe der Uhrzeit des letzten Ausdrucks werden nur noch die neuesten Laborergebnisse ausgedruckt, so daß das Pflegepersonal auf der Station nicht auf den Tagesabschluß des Labors warten muß. Der frühzeitige Teilbefundausdruck und dessen sofortige Integration in die Patientenakten macht den Arbeitsablauf (Schichtwechsel des Pflegepersonals usw.) auf der Station flexibler organisierbar.

Der Befundausdruck selbst ist auf verschiedene Weise durchführbar: so können entweder alle Befunde der Sta-

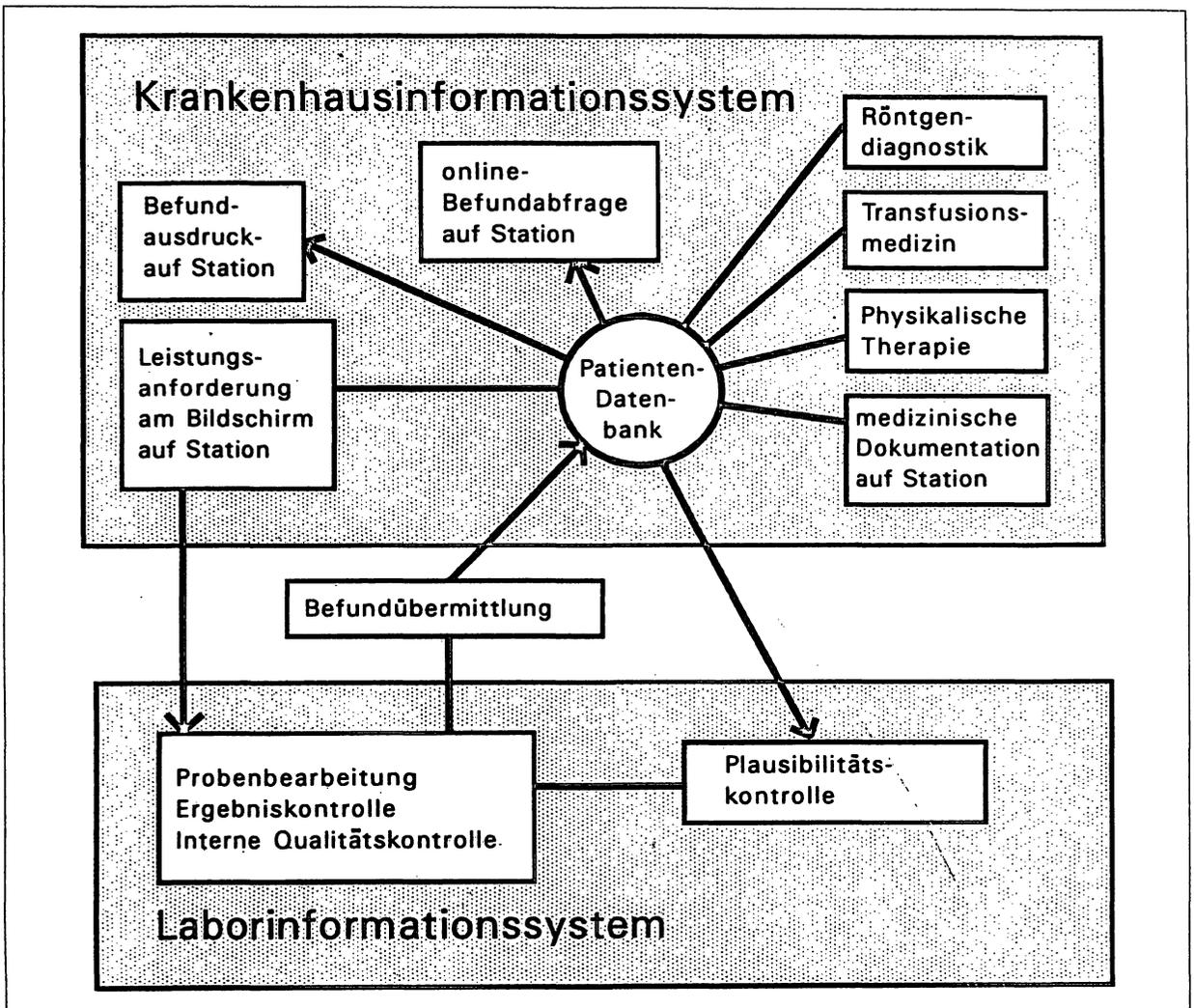


Abb. 3: Darstellung des Informationsflusses zwischen den innerhalb und außerhalb des Labors realisierten Komponenten des Laborinformationssystems im Zentralen Bereitschaftslabor des Universitätsklinikum Essen

tion gesammelt oder auch selektiv nur Befunde für einzelne Patienten ausgedruckt werden. Die Möglichkeit des stationsweisen Ausdrucks (Gesamtbefunde einer Station) besteht für Tageseinzelbefunde und für Kumulativbefunde.

Alle Tages- oder Kumulativbefunde lassen sich vom Pflegepersonal zu jedem Zeitpunkt beliebig häufig und mit freier Datumswahl ausdrucken. Dabei besteht z.B. auch die Möglichkeit, daß auf der Station für einen einzelnen Patienten ein Gesamt-Kumulativbefund ausgedruckt wird, nachdem die Behandlung abgeschlossen und der Patient schon nach Hause entlassen ist.

Bewertung und Ausblick

Das hier beschriebene Laborinformationssystem unterscheidet sich im wesentlichen von anderen Systemen

durch das Konzept der Hardwarekonfiguration (PC-Netzwerk mit Client-Server-Architektur), die Einbindung in ein Krankenhausinformationssystem sowie die Nutzung der Möglichkeiten dieser Integration.

Die Funktionen des Laborinformationssystems, die der Unterstützung *innerhalb* des Labors dienen, als eigenständiges PC-Netzwerk zu realisieren, entspricht dem Konzept der *dezentralen* Datenverarbeitung: Ziel ist hierbei, Computerleistungen direkt zum Nutzer hin zu verlagern. Dadurch werden Datenbanken und EDV-Leistungen zunehmend verteilt eingesetzt. Diese *verteilten Systeme* durch genau definierte Schnittstellen und Protokolle (z. B. Health Level 7 [HL7], Transmission Control Protocol/Internetwork Protocol [TCP/IP], Open Systems Interconnection [OSI]) miteinander zu verknüpfen [25], wird zum vordringlichen Ziel der Datenverarbeitung. Das Client-Server-Konzept unseres PC-Netzwerkes unterstützt hierbei, in besonderer

Weise die selbständige Durchführung von örtlichen Aufgaben und Abläufen innerhalb des Labors.

Die Einbindung dieses Subsystems in ein übergeordnetes Krankenhausinformationssystem bietet Vorteile für beide Nutzergruppen des Laborinformationssystems: die Nutzer *innerhalb* (Laborärzte, med. technische Assistenten) und *außerhalb* des Labors (Stationsärzte, Pflegepersonal). Im Gegensatz zu herkömmlichen Laborinformationssystemen („Insellösungen“) ist hierbei im gesamten Krankenhausbereich der Zugriff auf Laborbefunde durch Nutzung von Teilkomponenten eines integrierten Laborinformationssystems möglich. Diese gewünschte Öffnung nach außen kann den Funktionsumfang eines integrierten Laborinformationssystems beträchtlich erweitern [13]. Im wesentlichen sind dies datenbankgestützte Entscheidungshilfen für den Stationsarzt, verbesserte Kommunikationsmöglichkeiten zwischen Labor und Station (online-Datenzugriff auf Station und Befundübermittlung) und der Datenzugriff für administrative Aufgaben innerhalb des Krankenhauses.

Die Integration eines Laborinformationssystems in ein Krankenhausinformationssystem eröffnet neue Möglichkeiten zur Optimierung der wirtschaftlichen Effizienz eines Krankenhauslaboratoriums [15, 16, 29]. So ermöglicht z. B. die online-Testanforderung am Bildschirm auf Station unter Berücksichtigung der gespeicherten klinischen Daten des Patienten die Einbindung von Entscheidungshilfen und Rückmeldungen während des Anforderungsdialogs (z.B. Anzeige der vorherigen Laboranforderungen, Anzeige der Kosten eines Verfahrens, Hinweis auf Plausibilität der Laboranforderungen usw.) [27, 28, 30, 31].

Die zukünftige Entwicklung von computergestützten Entscheidungshilfen und wissensbasierten Systemen innerhalb des Labors [32–35] kann durch die Integration von Laborinformationssystemen in Krankenhausinformationssysteme gefördert werden, da durch diese Vernetzung Daten der zentralen klinischen Patientendatenbank des Krankenhausinformationssystems in die Wissensbasis miteinbezogen werden können. Weiterhin wird durch die Übermittlung von Laborbefunden in die klinische Patientendatenbank des Krankenhausinformationssystems die Entwicklung von computergestützten Entscheidungshilfen, die dem Stationsarzt am Bildschirm auf Station direkt zugänglich sind, realisierbar [27].

Literatur:

1. Ball, M. J., O'Desky, R. I., Douglas, J. V. (1991) Status and Progress of Hospital Information Systems (HIS). *Int. J. Biomed. Comput.*, **29**, 161–168.
2. Collen, M. F. (1991) A Brief Historical Overview of Hospital Information Systems (HIS) Evolution in the United States. *Int. J. Biomed. Comput.*, **29**, 169–189.
3. Kuperman, G. J., Gardner R. M., Pryor, T. A. (eds.) (1991) *HELP: A Dynamic Hospital Information System*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
4. Prokosch, H. U., Dudeck, J., Junghans, G., Marquardt, K., Sebald, P., Michel, A. (1991) WING - Entering a New Phase of Electronic Data Processing at the Gießen University Hospital. *Meth. Inform. Med.*, **30**, 289–298.
5. Ehlers, C.Th., Schillings, H., Pietrzyk, P. M. (1992) HIS and Integration. In: *Hospital Information Systems: Scope-Design-Architecture*. North-Holland Publ. Comp., Amsterdam, pp. 49–56.
6. Klar, R., Zaiss A., Timmermann, U., Schrader, U. (1991) The Information System of the Freiburg University Hospital. In: *Medical Informatics Europe '91*. (Adlansnig, K.-P., Grabner, G., Bengtsson, S., Hansen R. eds.). Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 46–50.
7. Bakker, A. (1990): An Integrated Hospital Information System in the Netherlands. *MD Computing*, **7**, 91–97.

8. Scherrer, J. R., Baud, R. H., Hochstrasser, D., Ratib, O. (1990) An Integrated Hospital Information System in Geneva. *MD Computing*, **7**, 81–89.
9. McDonald, C. J., Blevins, L., Tierney, W. M., Martin D. K. (1988) *The Regenrief Medical Records*. MD Computing **5**, 34–47.
10. Ball, J., Douglas, J. V., O'Desky, R. I., Albright, J. W. (eds.) (1991) *Healthcare Information Management Systems—A Practical Guide*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
11. Bock, H. E., Eggstein, M. (eds.) (1970) *Diagnostik Informationssystem*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
12. Friedman, B. A., Dieterle, R. C. (1990) Integrating Information Systems in Hospitals. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **114**, 13–16.
13. Friedman, B. A. (1989) The Laboratory Information System as a Tool for Implementing a Strategic Plan. *Am. J. Clin. Pathol.*, **92** (Suppl 1), S38–S43.
14. König, A., Horn, K. (1993) Das Labor-EDV-System der Medizinischen Klinik des Klinikums Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München-Datenstruktur, Funktionsumfang und Einbettung in ein Klinik-Informationssystem. *Klin. Lab.*, **39**, 31–38.
15. Tierney, W. M., Miller, M. E., Overhage, J. M., McDonald, C. J. (1993) Physician Inpatient Order Writing on Microcomputer Workstations. *JAMA*, **269**, 379–383.
16. Peters, M., Broughton, P. M. G., Nightingale, P. G. (1991) Use of information technology for auditing effective use of laboratory services. *J. Clin. Pathol.*, **44**, 539–542.
17. Hagemann, P., Vonderschmitt, D. J. (1991) *Laboratory Requests*. In: *Laboratory Organization—Automation*. (Vonderschmitt, D. J., ed.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 119–140.
18. Rector, A. L., Nowlan, W. A., Kay, S. (1991): Foundations for an Electronic Medical Record. *Meth. Inform. Med.*, **30**, 179–186.
19. Whiting-O'Keefe, Q. E., Simborg, D. W., Epstein, W. V., Warger, A. (1985) A Computerized Summary Medical Record System Can Provide More Information Than the Standard Medical Record. *JAMA*, **254**, 1185–1192.
20. Risch, G. (1991) Reporting of Results. In: *Laboratory Organization—Automation*. (Vonderschmitt, D., ed.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 207–222.
21. Porth, A. J., Badke, C., Bothung, S., Worzyk, M. (1989) Result Reports from Large Centralized Laboratories. In: *Data Presentation—Interpretation*. (Keller, H., Trendelenburg, Chr. eds.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 33–61.
22. Trendelenburg, Chr., Heidrich, R., Hesseling, B., Luthe, H., Porth, A. J., Weiß, U. (1985) Forderungen an ein Labor-EDV-System hinsichtlich Zeitverhalten, Meßwertfassung, Behandlung von Notfallensendungen und Systempflege. *Dt. Ges. f. Klin. Chemie e.V. Mitteilungen*, **4/85**, 172–180.
23. Trendelenburg, Chr. (1984) Von der auftrags- zur patientenorientierten Arbeitsweise bei Einsatz eines EDV-Systems im Krankenhauslabor. *Lab.-med.*, **8**, 334–340.
24. Neitzel, V. (1992) *Labordaten-Verarbeitung*. VCH Weinheim.
25. Gierl, L., Greiller R., Landersdorfer, Th., Müller, H., Überla, K. (1989) A User-oriented Protocol for Integrating Heterogeneous Communication Systems of Medical Facilities Using Ports. *Meth. Inform. Med.*, **28**, 97–103.
26. Schosser, R., Weiss, C., Messmer, K. (1991) A Local Area Network for Medical Research; Planning, Realization and Experience. *Meth. Inform. Med.*, **30**, 53–64.
27. Clayton, P. D., Evans, R. S., Pryor, T. A., Gardner, R. M., Haug P. J., Warner, H. R. (1989) Data Driven Interpretation of Laboratory Results in the Context of a Medical Decision Support System. In: *Data Presentation—Interpretation*. (Keller, H., Trendelenburg, Chr. eds.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 367–380.
28. Tierney, W. M., McDonald, C. J., Hui, S. L., Martin, D. K. (1988) Computer Predictions of Abnormal Tests Results. *JAMA*, **259**, 1194–1198.
29. Knedel, M. (1985) Aspekte zur Optimierung der Wirtschaftlichkeit im Krankenhauslaboratorium. In: *Methoden-, Reagenzien- und Geräte-Evaluation in der Laboratoriumsmedizin*. (Merten, R., von Borovitszeny, K.-G., Haackel, R. eds.) pp. 263–296.
30. Fraser, C. G., Woodford, F. P. (1987) Strategies to modify the test requesting patterns of clinicians. *Ann. Clin. Biochem.*, **24**, 223–231.
31. Fraser, C. G., de Cediell, N., Porter, C. J., Schwartz, M. K., Worth, H. G. J., Zinder, O. (1985) Guidelines (1985) for Clinical Chemists for Effective Communication of Clinical Chemistry Laboratory Data. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **23**, 891–897.
32. Connelly, D. P. (1990) Embedding Expert Systems in Laboratory Information Systems. *Am. J. Clin. Pathol.*, **94** (Suppl 1), S7–S14.
33. Trendelenburg, Chr. (1989) Expert Systems in Clinical Chemistry. In: *Data Presentation—Interpretation*. (Keller, H., Trendelenburg, Chr. eds.). Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 381–402.
34. Winkel, P. (1989) The Application of Expert Systems in the Clinical Laboratory. *Clin. Chem.*, **35**, 1595–1600.
35. Knedel, M. (1991) „Wissensbasierte Systeme für die Laboratoriumsmedizin“ – eine Standortbestimmung –. In: *Künstliche Intelligenz*. (Büttner, J. et al. eds.). GIT-Verlag, Darmstadt, pp. 80–97.

Anschrift für die Verfasser:

Dr. med. Lothar Volbracht
 Abteilung für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik
 des Zentrum für Innere Medizin
 Universitätsklinikum Essen
 Hufelandstraße 55
 45122 Essen