



AUTOMATISIERTE DRIED-BLOOD-SPOT-ANALYSE

DEN INFORMATIONSGEHALT WENIGER BLUTSTROPFEN EFFIZIENT AUSLESEN

Der Einsatz des vollautomatisierten MultiPurposeSampler-(MPS)-basierten Dried-Blood-Spot-Analysesystems (GERSTEL-DBS-A) bietet Anwenderinnen und Anwendern in der Praxis viele Mehrwerte.

Die DBS-Analyse erweist sich als einfache Technik für die Untersuchung von Blut. Wenige Mikroliter Blut genügen zur Durchführung einer Dried-Blood-Spot-(DBS)-Analyse. Appliziert, bevorratet und zur Vermessung gelangt das Blut auf spezielle Cellulose-Karten, die als Probenträger fungieren. Die Effizienz und Produktivität der DBS-Analyse hängt jedoch signifikant von ihrem Automatisierungsgrad ab. Eine leistungsfähige Gesamtlösung (DBS-A) auf Basis des GERSTEL-MultiPurposeSamplers (MPS), gekoppelt an ein LC-MS/MS-System oder als Workstation, hat GERSTEL in Kooperation mit der niederländischen Firma Spark Holland entwickelt und erfolgreich in relevanten Laborumgebungen etabliert. Bedeutet: Einfach die Karte ins Rack des Autosamplers gestellt, auf Start gedrückt und los geht's. Zur Anwendung kommt das DBS-A-System

von GERSTEL derzeit unter anderem in führenden Anti-Doping-Laboratorien und in pharmazeutischen Laboratorien. Der Einsatz des DBS-A-Systems im Rahmen forensisch-toxikologischer Anwendung liegt auf der Hand (siehe dazu auch unseren Beitrag zum Nachweis von Phosphatidylethanol [PEth] auf Seite 17).

Der MPS transportiert die DBS-Karte zu einer Kamera; eine integrierte Bilderkennungssoftware bestimmt die Lage und bewertet die Qualität des getrockneten Blutstropfens. Der MPS platziert die Karte dann im Desorptionsinterface, in dem eine definierte Fläche des Blutstropfens (2 bis 8 mm Durchmesser) von einem

Lösungsmittel durchströmt wird, um die Analyten zu desorbieren (Flow Through Desorption, FTD™). Interne Standards lassen sich zudosieren, Aufreinigungsschritte auf einer automatisch auswechselbaren SPE-Kartusche anschließen.

Nach dem Transfer der Analyten in das HPLC-System oder dem Sammeln von Extrakten unter Einsatz der MPS-Workstation – einschließlich weiterer automatisierter Probenvorbereitungsschritte wie Eindampfen und Derivatisieren – wird die DBS-Karte freigegeben und die Leitungen werden gespült. Zu Dokumentationszwecken wird noch ein Foto der Karte nach dem Desorptionsschritt angefertigt. Insofern das Gesamtsystem direkt an die HPLC gekoppelt ist, werden die Analyten aus dem desorbierten Bereich vollständig auf die HPLC-Säule und damit ins Massenspektrometer überführt, was für sehr gute Nachweisgrenzen sorgt.

Das DBS-A-Gesamtsystem lässt sich nicht nur für Blutproben nutzen, die Analyse einer Vielzahl anderer flüssiger Matrices wie Plasma, Urin oder Wasser ist sinnvoll und möglich.

LITERATURHINWEIS

L. Tretzel, A. Thomas, T. Piper, M. Hedeland, H. Geyer, W. Schänzer und M. Thevis, Fully automated determination of nicotine and its major metabolites in whole blood by means of a DBS online-SPE LCHR-MS/MS approach for sports drug testing, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 123 (2016) 132-140, DOI: 10.1016/j.jpba.2016.02.009, <http://bit.ly/2whZgAg>

LITERATURHINWEIS

L. Tretzel, C. Görgens, H. Geyer, A. Thomas, J. Dib, S. Guddat, V. Pop, W. Schänzer und M. Thevis, Analyses of Meldonium (Mildronate) from Blood, Dried Blood Spots (DBS), and Urine Suggest Drug Incorporation into Erythrocytes, *International Journal of Sports Medicine*, DOI: 10.1055/s-0036, <http://bit.ly/38iXCf7>

Open Access



Vollautomatisiertes, MPS-basiertes DBS-A-System.

REFERENZEN

- [1] F. D. Foster, J. R. Stuff und E. A. Pfannkoch, Automated Desorption, SPE Extraction, and LC-MS/MS Analysis of Dried Blood Spots, GERSTEL AppNote 4/2015, <http://bit.ly/2Tcf0xr>
- [2] J. Dib, L. Tretzel, T. Piper, A. Lajojda, D. Kuehne, W. Schänzer und M. Thevis, Screening for adiponectin receptor agonists and their metabolites in urine and dried blood spots, *Clinical Mass Spectrometry* 6 (2017) 13-20, DOI: 10.1016/j.clinms.2017.10.002, <http://bit.ly/32H3dun>

PHOSPHATIDYLETHANOLE (PEth): BIOMARKER DES ALKOHOLKONSUMS VOLLAUTOMATISIERT AUS DBS BESTIMMEN

Mag man auch über die Bestimmung der Atem- und Blutalkoholkonzentration sicher ermitteln können, ob jemand kürzlich Alkohol konsumiert hat: Eine längerfristige Abstinenz, wie sie im Rahmen von Therapien oder im Zuge der Fahreignungsprüfung verlangt wird, lässt sich damit nicht belegen. Hierfür bedarf es anderer Methoden, zum Beispiel die Bestimmung spezieller Biomarker, die den Alkoholkonsum sicher belegen. Als aussichtsreiche Kandidaten haben sich Phosphatidylethanole (PEth) herausgestellt. PEth (16:0/18:1 PEth, 16:0/18:2 PEth) lassen sich lange Zeit nach dem letzten Alkoholkonsum hinreichend empfindlich in Blut nachweisen.

Allerdings kann sich die PEth-Konzentration in flüssigen Proben aufgrund fortschreitender enzymatischer Aktivität verändern, womit sich flüssige Blutproben für die Analyse als ungünstig erweisen. Zur Bestimmung von PEth empfiehlt sich daher die Verwendung von Trockenblutproben (Dried Blood Spots, DBS). Eine einfache und volumengenaue Probenahme von Vollblut auf DBS-Karten und ein sicherer Probenversand lässt sich mit HemaXis™ DB 10 von der Schweizer Firma DBS System realisieren.

Mit dem vollautomatisierten GERSTEL-DBS-A-System gelingt der PEth-Nachweis effizient, sicher und sensitiv im 10-ng/mL-Bereich. Alle Schritte des Probenhandlings einschließlich Barcode-Identifizierung, Zugabe von internen Stan-



HemaXis DB 10 zur einfachen und genauen Entnahme und Bereitstellung von 10 µL Vollblut auf Dried-Blood-Spot (DBS) Karten zur Bestimmung unter anderem von PEth. Foto: DBS System

dards, Herauslösen repräsentativer Probemengen aus dem Probenträger, Festphasenextraktion (SPE) bis zur online-gekoppelten LC-MS/MS-Bestimmung verlaufen schnell und zuverlässig. Details zu unserem vollautomatisierten GERSTEL-MPS-DBS-A-LC-MS/MS-System erhalten Sie auf Anfrage per E-Mail an info@gerstel.de.

HÄMATOKRITWERT IN DRIED BLOOD SPOTS (DBS) AUTOMATISCH BESTIMMEN

In Zusammenarbeit mit Büchi hat GERSTEL ein Analysesystem entwickelt, mit dem sich der Hämatokritwert in Trockenblutproben auf DBS-Karten vollständig automatisch und zerstörungsfrei bestimmen lässt. Die Bestimmung des Hämatokritwertes erfolgt durch Infrarotmessung (NIR) und anschließender multivariater Auswertung der Spektren. Die Probe wird mittels GERSTEL-DBS-A extrahiert und im LC-MS/MS analysiert. Die Analyse verläuft vollautomatisiert unter Einsatz der GERSTEL-MAESTRO-Steuerungssoftware. Die Bestimmung des Hämatokritwertes kann wahlweise unmittelbar vor

der DBS-Analyse erfolgen oder applikativ beziehungsweise gerätetechnisch unabhängig auf Basis einer Standalone-Variante.



Büchi-NIR zur Bestimmung des DBS-Hämatokritwertes vor Extraktion und Analyse mittels GERSTEL-DBS-A-LC-MS/MS. Foto: Büchi