

**Bachelorarbeiten
Biomedizinische
Labordiagnostik
2025**



Inhaltsverzeichnis

Vorwort 5

**Diplomandinnen
und Diplomanden** 8

Amine Aksu	8
Holly Alexander	9
Vivien Ambühl	10
Tamara Aneni	11
Emine Balli	12
Liliana Beeler	13
Ana Lucia Benavente Luna	14
Michèle Bischof	15
Deborah Carnibella	16
Jelena Cvejic	17
Mara Dutly	18
Nadja Eggen	19
Gzime Emrulai	20
Loredana Marinette Falcone	21
Pina Loredana Gallo	22
Erwin Gisler	23
Sandrine Goetz	24
Catarina Gomes Pacheco	25
Vera Margarita Gomez	26
Michelle Gorupec	27
Lisa Maria Greiter	28
Lea Gugganig	29
Anna Hasenfratz	30

Nicole Hirt	31	Araneya Sivanantharajah	59
Ka Men Ho	32	Elmedina Skenderovic	60
Ramona Mirjam Hofstetter	33	Salome Straumann	61
Edita Idrizi	34	Sophia Tischhauser	62
Shankavie Jeyanathan	35	Florian Tribelhorn	63
Priya Jose	36	Jasmin Varga-Linder	64
Enya Jossen	37	Ivana Vujinovic	65
Stefanie Kern	38	Ksenia Weiss	66
Melanie Keusch	39	Ying Yi Du	67
Livia Shanice Kiener	40	Christophe Zehnder	68
Ramon Krieg	41		
Katja Anneke Kurth	42		
Marc Landolfo	43		
Ariane Lobsiger	44		
Laura Martinisi	45		
Oliwia Mitoraj-Sliwa	46		
Raphael Müller	47		
Meret Niklaus	48		
Nadine Ottiger	49		
Annina Portmann	50		
Shawmiya Ratnasabapathy	51		
Ajshe Redjepi	52		
Fabienne Schättin	53		
Martina Schluchter	54		
Kathrin Schneider	55		
Nadja Schönenberger	56		
Sabrina Sequeira Dias	57		
Rinesa Shabija	58		

Fachgruppen Biomedizinische Labordiagnostik 70

Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT) 72

ALUMNI ZHAW 74

ZHAW LSFM 75

Liebe Diplomandinnen und liebe Diplomanden des BMLD22

Mit grosser Freude und Stolz präsentieren wir Ihnen das erste Bachelor-Booklet des Studiengangs Biomedizinische Labordiagnostik an der ZHAW. Sie gehören zur allerersten Abschlussklasse – ein Meilenstein, der nicht nur für Sie persönlich, sondern auch für unseren Studiengang von besonderer Bedeutung ist.

In den vergangenen drei Jahren haben Sie sich mit grossem Engagement, Neugier und Durchhaltevermögen den vielfältigen Herausforderungen dieses anspruchsvollen Studiums gestellt. Sie haben nicht nur fundiertes Wissen in den Bereichen Diagnostik, Laboranalytik und klinische Forschung erworben, sondern auch gezeigt, wie breit und zukunftsweisend das Berufsfeld der biomedizinischen Labordiagnostik ist.

Die in diesem Booklet aufgeführten Bachelorarbeiten spiegeln diese Vielfalt eindrucksvoll wider. Sie zeigen auf, wie breit das Spektrum an Themen ist – von molekularbiologischen Fragestellungen über klinische Studien bis hin zu innovativen diagnostischen Verfahren. Damit geben sie auch einen Ausblick auf die zahlreichen beruflichen Wege, die Ihnen nun offenstehen.

Wir sind stolz auf Sie – auf Ihre Leistungen, Ihre Entwicklung und Ihren Beitrag zur Etablierung dieses neuen Studiengangs. Möge dieses Booklet nicht nur eine Erinnerung an Ihre Studienzeit sein, sondern auch eine Inspiration für Ihre weitere berufliche Reise.

Mit herzlichen Grüssen



Dr. Sylvia Kaap-Fröhlich MBA
Studiengangleiterin Biomedizinische Labordiagnostik

Nach dem
Studium können Sie
im Forschungslabor, in
der Industrie oder im
medizinischen Labor eines
Spitals tätig sein
und einen wichtigen
Beitrag leisten.





Ermittlung der Stammdiversität von *Chlamydia suis* innerhalb einer gemischten Population mithilfe von Gen-spezifischer Nanopore Sequenzierung



Diplomandin	Amine Aksu
Korrektor ZHAW	Dr. Ramon Eichenberger
Korrektor/-in extern	Dr. Hanna Marti und Dr. Michael Biggel, Universität Zürich

Chlamydia suis, ein obligat intrazelluläres Bakterium, das vorwiegend im Gastrointestinaltrakt von Schweinen nachgewiesen wird, ist assoziiert mit Konjunktivitis, Pneumonie, Enteritis, und Reproduktionsstörungen. Es ist die einzige Chlamydienart mit natürlich akquirierter Antibiotikaresistenz in Form einer chromosomal lokalisierten Tetrazykloneffluxpumpe. Zirkulierende *C. suis* Isolate weisen ein plastisches Genom mit hoher phylogenetischer Diversität innerhalb derselben Schweinefarm und sogar innerhalb desselben Schweins auf. Jedoch konnte die exakte Stammdiversität bis anhin aufgrund mangelnder Methoden zur effizienten Erfassung von *C. suis* DNA aus Feldproben noch nicht genau untersucht werden. Einzelgen-Amplifikation mittels konventioneller PCR gefolgt von Nanopore Sequenzierung könnte eine kostengünstige und effiziente Methode darstellen, um

die Stammdiversität von Feldproben zu identifizieren. Das Ziel unserer Studie war die Entwicklung und Validierung einer *C. suis*-spezifischen PCR, welche das genetisch variable Gen (*ompA*) kodierend für das äussere Membranprotein (MOMP) nachweist. Diese PCR wurde dann verwendet, um die Stammdiversität von *C. suis* mittels genspezifischer Nanopore Sequenzierung zu bestimmen. Zwei bis zu vier *C. suis* Stämme, zwei empfindlich und zwei resistent gegenüber Tetrazyklin, wurden in verschiedenen Verhältnissen vor oder nach DNA-Extraktion, sowie nach PCR Amplikonproduktion gemischt und sequenziert. Anschliessend haben wir zur Stammidentifikation der *ompA* Amplikone zwei referenzfreie Konsensus-Sequenzbildungs-Tools (Amplicon_sorter, CONCOMPRA) auf ihre Leistung geprüft und miteinander verglichen. Mit dieser Machbarkeitsstudie konnten wir ermitteln, dass genspezifische Nanopore Sequenzierung sich eignet um zwei oder mehr *C. suis*-Stämme in artifiziiell gemischten Proben zu ermitteln. Die Untersuchung von drei gepaarten Feldproben vor und nach Isolation in Kultur hat ergeben, dass die Stamm-Diversität nach Kultivierung abnimmt und sich in natürlichen Feldproben 1–6 verschiedene Stämme befinden.

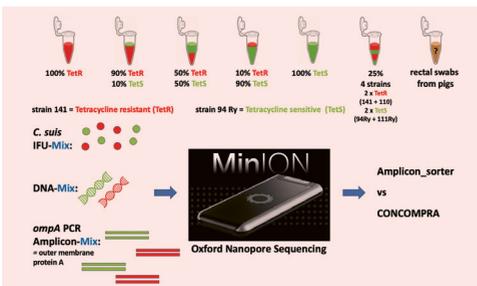


Abb. 1: Alle Proben wurden sequenziert und es wurden mit Amplicon_sorter und CONCOMPRA referenzfreie Konsensus-Sequenzen gebildet, welche überprüft wurden mit bekannten *ompA* Referenzsequenzen.

Etablierung eines zellbasierten Screening-Assays zur Entwicklung liposomaler Formulierung zum Schutz vor Sepsis (vertraulich)



Diplomandin

Holly Alexander

Korrektor/-in ZHAW

PD Dr. René Köffel, Dr. Timothy Bergmann

Diese Bachelorarbeit befasst sich mit einem neuartigen therapeutischen Ansatz zur Minderung entzündlicher Reaktionen, die durch bakterielle Toxine ausgelöst werden. Im Fokus stehen liposomale «Nanotraps», die durch ihre Zusammensetzung aus biokompatiblen Lipiden die äussere Plasmamembran menschlicher Zellen nachahmen. Dadurch können sie bakterielle Toxine binden und neutralisieren, ohne, wie herkömmliche Antibiotika, einen evolutionären Selektionsdruck auf die Bakterien auszuüben.

Ziel der Arbeit war es, ein zellbasiertes Screening-Assay zu entwickeln, mit dem die Schutzwirkung verschiedener Liposomen Formulierungen untersucht werden kann, um solche zu identifizieren, die Zellen vor Toxin-induzierten Entzündungsreaktionen schützen. Dazu wurden genetisch modifizierten THP-1-Zellen eingesetzt, die bei Aktivierung spezifischer Entzündungsreaktionswege ein fluoreszierendes Signal (GFP) erzeugen, das quantitativ mit dem Ausmass der Entzündungsreaktion korreliert. Diese Stimulation erfolgte mit verschiedenen bakteriellen Liganden, und die GFP-Fluoreszenz wurde mittels eines Plattenlesegeräts bzw. durchflusszytometrisch (FACS) als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) gemessen.

Beide Messmethoden zeigten ähnliche Trends, jedoch erwies sich FACS als sensitiver und zuverlässiger, insbesondere bei höheren Signalstärken. Mithilfe statistischer Parameter wurde sowohl die Qualität der Assays als auch die Schutzwirkung der Liposomen bewertet. Wie in Abbildung 1 ersichtlich, zeigten unterschiedliche Liposomen Formulierungen eine unterschiedliche Senkung der MFI, was auf eine unterschiedliche Schutzwirkung hinweist.

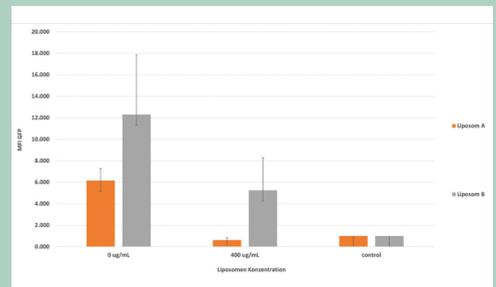


Abb. 1: GFP MFI, THP-1-Zellen inkubiert mit 10 ng/mL bakterielle Toxine. MFI normalisiert zu unbehandelter Kontrolle, Liposom A/B n=3, Liposom C n=1, Error bar=SEM, t=24h, FACS.

Die Studie liefert ein Proof-of-Concept für ein robustes Zell-basiertes Assay zur Identifikation entzündungshemmender Liposomen und stellt damit eine vielversprechende Grundlage für die Entwicklung zukünftige Therapien gegen Sepsis und bakterieller Entzündungsreaktionen dar.

Herstellung rekombinanter R2-Typ Pyocine für die spezifische Kontrolle von *Pseudomonas aeruginosa*



Diplomandin Vivien Ambühl

Korrektor/-in ZHAW Dr. Marjan Veljkovic, Prof. Dr. Lars Fieseler

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der ZHAW durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Pseudomonas aeruginosa ist ein gram-negativer und opportunistischer Krankheitserreger, welcher ubiquitär in der Umwelt vorkommt. Ein besonders grosses Problem stellt die ausgeprägte Antibiotikaresistenz dieses Bakteriums dar. *P. aeruginosa* ist von Natur aus gegen viele gängige Antibiotika unempfindlich. Zudem steigt die Rate an Antibiotikaresistenzen weltweit immer weiter an und deshalb werden dringend neue Therapiemöglichkeiten benötigt. Phagen sind bereits sehr vielversprechend bei Patienten, welche therapieresistent gegenüber Antibiotika sind. Zunehmend entwickeln Bakterien auch Resistenzen gegen Phagen.

Phagenschwanz-ähnliche Bakteriozine besitzen im Vergleich zu Phagen einen unterschiedlichen Wirkmechanismus. Von *P. aeruginosa* produzierte Bakteriozine, werden als Pyocine bezeichnet. Anders als Phagen führen Pyocine nach der Bindung zu einem schnellen Tod. Zudem übertragen sie keine Gene, wodurch das Risiko einer Resistenzverbreitung deutlich vermindert wird. R2-Typ Pyocine besitzen aufgrund ihrer spezifischen Rezeptorbindung ein begrenztes Wirtsspektrum.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit war es, rekombinante R2-Typ Pyocine, die *P. aeruginosa* spezifisch infizieren, herzustellen. Dazu wurden die Rezeptorbindungsproteine des nativen R2-Typ Pyocin aus *P. aeruginosa* durch Rezeptorbindungsproteine aus dem Phagen LBL3 ersetzt. Anhand von unterschiedlichen *Pseudomonas*-Stämmen wurde das Wirtsspektrum des Phagen LBL3 bestimmt, wobei 20 von 33 Stämme infiziert wurden. Für die Herstellung von rekombinanten R2-Typ Pyocinen wurden zwei Expressionsvektoren unterschiedlicher Länge generiert. Nach der homologen Rekombination wurden die Pyocine aus Kulturüberständen isoliert und charakterisiert. Dafür wurde das Aktivitätsspektrum und die bakterizide Aktivität der Pyocine gegen verschiedene *P. aeruginosa*-Stämme bestimmt.

Gattung	Spezies	Stamm	Ergebnis
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Aa245	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		GHB15	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Δ PRF15	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Wildtyp	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Δ wapH	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Δ flm tn7-gfp	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Δ algC	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Δ wapR	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PAO1 Δ pilA tn7-gfp	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		PT42	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		C	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		SS6	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		NN1	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		SS60	-

Abb. 1: Ausschnitt der Wirtsspektrum-Analyse des Phagen LBL3 auf unterschiedlichen *P. aeruginosa*-Stämme. +++ entspricht einer Plaque-Anzahl, die des Propagationsstammes (Aa245) entspricht. ++ zehnfach und + hundertfach geringere Anzahl.

Diversity of *cas* gene clusters in members of the genus *Phytobacter*



Diplomandin

Tamara Aneni

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Theo H. M. Smits, Dr. Fabio Rezzonico

This bachelor's thesis investigates the evolutionary development and structural diversity of CRISPR-Cas systems within the genus *Phytobacter*. Initial analyses revealed that CRISPR-Cas systems are not consistently present across all *Phytobacter* species, indicating high variability and potential functional differences. The aim of this study was therefore to conduct a comprehensive inventory and classification of CRISPR/Cas systems, as well as to examine their genetic architecture and evolutionary history.

Using various bioinformatic tools, including EDGAR, the Lasergene Genomics Suite, and MEGA, *Phytobacter* genomes were systematically analyzed. The focus was placed on Type I-E systems, which could be divided into two structurally distinct subtypes: Type I-E (a) and Type I-E (b). These subtypes differ primarily in the orientation of the *cas3* gene and in the overall arrangement of *cas* genes. Additionally, in some Type I-E (b) systems, an alternative *cse2* gene was identified, suggesting possible genomic recombination events. It was also found that *Phytobacter brasiliensis* harbors a distinct CRISPR-Cas system of the Type I-F subtype, which is characterized by a different set of *cas* genes compared to the Type I-E systems identified in other *Phytobacter* species.

Evidence of degradation processes such as pseudogenization, gene truncation, and the absence of essential genes like *cas1* and *cas2* was also found. These findings underscore the structural plasticity and evolutionary dynamics of CRISPR-Cas systems in *Phytobacter*, offering new insights into their potential adaptation to different ecological niches.

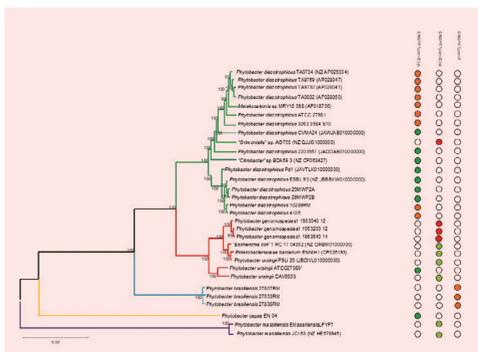


Fig. 1: The tree illustrates the distribution and diversity of CRISPR-Cas types across the *Phytobacter* genus. Three distinct clades corresponding to different CRISPR types are highlighted: Type I-E(a), Type I-E(b), and Type I-F. The phylogeny is based on whole-genome data and reveals clear clustering patterns that correspond to CRISPR system architecture, reflecting evolutionary divergence and possible horizontal gene transfer events.

Etablierung von Primer zur Sequenzierung von Exon 1 des Coproporphyrinogen-Oxidase Gens (CPOX-Gen) mittels Sanger-Sequenzierung



Diplomandin	Emine Balli
Korrektorin ZHAW	Dr. Adisa Trnjanin
Korrektorin extern	PD Dr. Jasmin Barman-Aksözen, Stadtspital Zürich Triemli

Die hereditäre Koproporphyrurie (HCP) ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die zu den akuten hepatischen Porphyrinen gehört und durch Mutationen im CPOX-Gen verursacht wird. Eine präzise molekulargenetische Diagnostik ist entscheidend, um betroffene Patienten und asymptomatische Mutationsträger frühzeitig zu identifizieren und adäquat betreuen zu können. Im Stadtspital Zürich Triemli (STZT) zeigte sich jedoch, dass die Amplifikation und Sequenzierung von Exon 1 des CPOX-Gens in der Routinediagnostik nicht immer zuverlässig funktioniert. In dieser Bachelorarbeit wurde daher eine robuste PCR-basierte Methode zur Amplifikation und Sequenzierung von Exon 1 des CPOX-Gens etabliert. Hierfür wurden verschiedene Primerkombinationen getestet, sowie unterschiedliche Polymerasen hinsichtlich Amplifikationseffizienz und Spezifität verglichen. Die Kombination der Q5-Polymerase mit dem Primerpaar FP2/TRP2 erwies sich dabei als optimal. Die entwickelte Methode liefert stabile und reproduzierbare Amplifikate, die eine verlässliche Sanger-Sequenzierung ermöglichen und zukünftig in die Routinediagnostik am STZT integriert werden. Im Rahmen dieser Arbeit konnte zudem eine bislang unbekannte Deletion in Exon 1 nachgewiesen werden, die zu einem vorzeitigen Stopcodon führt. Darüber hinaus ermöglicht die neue Methode nun auch eine

gezielte Untersuchung asymptomatischer Familienangehöriger im Rahmen der familiären Diagnostik, um frühzeitig Risiken abschätzen und präventive Massnahmen ergreifen zu können. Diese Arbeit erweitert die diagnostischen Möglichkeiten zur Erfassung von Mutationen im CPOX-Gen und schliesst eine wesentliche Lücke in der genetischen Abklärung der Porphyrinen.

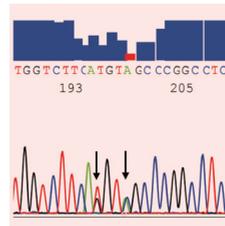


Abb. 1: Aufgrund der Länge von 663 bp wurde Exon 1 in die Abschnitte Exon 1a und Exon 1b unterteilt. Im Elektropherogramm der Patientenprobe 5 zeigen sich im Exon 1b zwei Punktmutationen, erkennbar an den überlappenden Doppelpeaks.

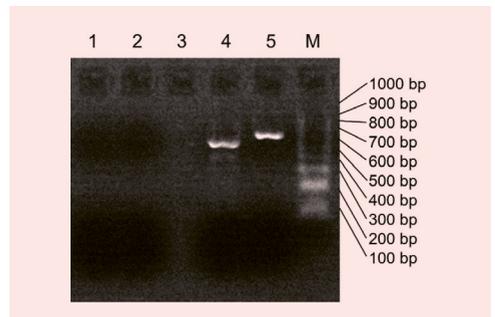


Abb. 2: 1–2: Negativkontrollen, (3) leer, (4) FP2/RP4, (5) FP2/TRP2. Auf dem 3 %igen Agarosegel bei 63 °C Annealing-Temperatur zeigen die Spalten 1 und 2 die Negativkontrollen ohne Amplifikate. In Spalte 4 (Primerpaar FP2/RP4) und Spalte 5 (Primerpaar FP2/TRP2), amplifiziert mit Q5 High-Fidelity-Polymerase, sind klare Banden der erwarteten Grösse sichtbar, jeweils ohne unspezifische Amplifikate.

MinION und PromethION Nanopore-Sequenzierung bei molekularpathologischen Fragestellungen



Diplomandin	Liliana Beeler
Korrektoren ZHAW	Dr. Emanuel Zampiccoli, Dr. Michael Niklaus
Korrektor extern	Dr. Markus Rechsteiner, USZ

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem Universitätsspital Zürich durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Ziel dieser Bachelorarbeit war es, im Rahmen eines Proof-of-Concepts Strategien zur epigenetischen Charakterisierung von Gefriergewebe aus Glioblastomproben mittels Oxford Nanopore Sequenzierung zu vergleichen. Untersucht wurden Ansätze zur DNA-Quantifizierung, Qualitätskontrolle sowie die Leistungsfähigkeit der Sequenzierplattformen MinION mit MinION Flowcells und P2 Solo mit PromethION Flowcells. Im Fokus standen folgende Fragestellungen:

- Wie vergleichbar sind die unterschiedlichen Quantifizierungsmethoden in Bezug auf Aussagekraft und Genauigkeit?
- Welche Quantifizierungsmethoden eignen sich am besten für die QC bei Long-Read Sequenzierung aus wirtschaftlicher und qualitativer Sicht?
- Wie unterscheidet sich der Output der beiden Flowcells MinION und PromethION bei Whole Genome Sequencing sowie bei der Klassifizierung mittels Methylierungsanalyse aus Tumor-DNA?

Die Resultate zeigen Unterschiede zwischen den Quantifizierungsmethoden. Der NanoDrop neigt zur Überschätzung der DNA-Konzentration. Qubit und GloMax sind anfällig für Pipettierfehler und Sättigungseffekte. Replikatsmessungen mit Qubit verdeutlichten die Bedeutung der Pipettiertechnik. Zur Beurteilung der Fragmentlängen bis 60 kb erwies sich die TapeStation als ökonomisch, während der Femto Pulse Analysen bis 165 kb ermöglicht. Der Vergleich der Sequenzierplattformen zeigte, dass PromethION Flowcells mehr Sequenzierdaten liefern. Die Auswertung mit NanoDx ergab, dass grössere Datenmengen tendenziell zu höheren Confidence Scores bei der Klassifikation der Methylierungsklassen führen.

Halogenase Design for Pharmaceutical Applications



Diplomandin

Ana Lucia Benavente Luna

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Rebecca Buller, M. Sc. Nicolas Imstepf,
Dr. Finn Gude

Enzymatic C–H functionalization is a powerful tool in the pharmaceutical industry because it enables the direct modification of carbon-hydrogen bonds in complex molecules with high selectivity under mild reaction conditions. This approach minimizes synthetic steps, potentially making drug synthesis more sustainable and cost-effective.

In particular, α -ketoglutarate-dependent dioxygenases (α -KGDs) have emerged as highly valuable biocatalysts for C–H functionalization in drug development. These non-heme iron enzymes use α -ketoglutarate and molecular oxygen to perform site-selective hydroxylation of unactivated C–H bonds under mild conditions. Their ability to functionalize specific positions on complex molecules, including natural products and drug-like scaffolds, makes them ideal for late-stage functionalization, a key advantage in lead optimization and analog synthesis. Moreover, α -KGDs can be engineered to expand their substrate scope and alter their chemoselectivity.

In this bachelor thesis, the optimization of a selected enzyme was explored. To this end, several amino acids in the active site were mutated and the resulting effect on activity was analyzed. While not all selected positions had an effect on activity,

several amino acid substitutions led to promising results. Overall, the applied assay workflow offers a solid foundation for future investigations of additional positions, larger sample libraries, and related enzymes.

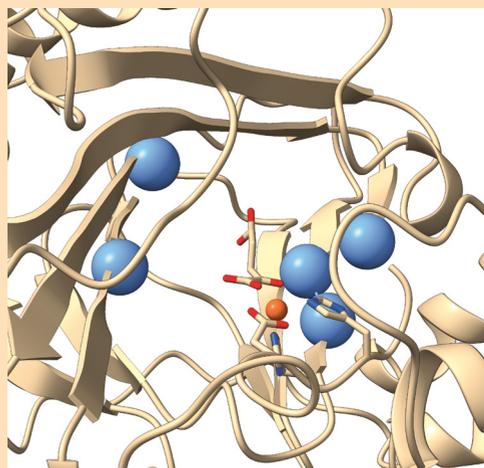


Fig. 1: Selected amino acid residues (light blue) within 5 Å of the iron centre (red) of proline α -KGD.

Methodenentwicklung zur Quantifizierung der Biomarker Vanillinmandelsäure und Homovanillinsäure in Dried Urine Spots



Diplomandin

Michèle Bischof

Korrektor/-in ZHAW

Dr. Susanne Kern, Prof. Dr. Sandro Manni

Vanillinmandelsäure (VMS) und Homovanillinsäure (HVS) sind Katecholaminmetaboliten und wichtige Biomarker in der Diagnostik des Neuroblastoms – dem häufigsten extrakraniellen Tumor im Kindesalter. Bisher erfolgt die Analyse dieser Metaboliten im klinischen Labor vorwiegend aus flüssigen Urinproben, was Herausforderungen hinsichtlich Transport, Lagerung und Stabilität mit sich bringt. Dried Urine Spots (DUS) stellen eine potenzielle Alternative dar, da sie eine vereinfachte und minimalinvasive Probenahme sowie eine stabilere Lagerung bei Raumtemperatur ermöglichen.

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Optimierung einer quantitativen Analyse-methode zur Bestimmung von VMS und HVS im Urin mittels Flüssigchromatographie gekoppelt an Massenspektrometrie (HPLC-MS), sowie die Evaluierung von DUS als Probenmatrix gegenüber flüssigem Urin. Im Rahmen der Methodenentwicklung wurden zentrale Geräteparameter mit Hilfe von Design of Experiment gezielt optimiert. Die analytische Leistungsfähigkeit wurde anhand eigener Kalibrierreihen, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, Wiederfindungsraten, Standardabweichungen sowie Stabilitätsuntersuchungen bewertet. Die Probenaufarbeitung wurde dabei gezielt an die Analyseergebnisse angepasst und optimiert. Zur genauen Quantifizierung der Metaboliten kamen

externe Kalibrierlösungen und interne Standards zum Einsatz.

Die ermittelten Nachweisgrenzen der eigenen Kalibrierreihen lagen im niedrigen $\mu\text{g/l}$ -Bereich. Die Kalibrierkurven wiesen eine hohe Linearität auf. Die mittleren Wiederfindungsraten der DUS lagen bei 68.3 % für VMS und 77.8 % für HVS, im Vergleich zu 104.1 % für VMS bzw. 101.3 % für HVS bei flüssigem Urin. Die Stabilitätsuntersuchungen zeigten, dass beide Matrices möglichst innerhalb von 24 Stunden analysiert werden sollten.

Abschliessend lässt sich festhalten, dass die entwickelte Methode sowohl eine zuverlässige Grundlage für die Quantifizierung der Zielanalyten liefert als auch das Potenzial der DUS als praxistaugliche Alternative in der Labordiagnostik unterstreicht.

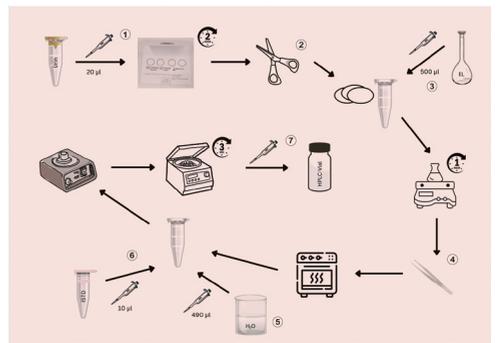


Abb. 1: Visualisierte Darstellung der Probenaufarbeitung der DUS. Nach Schritt 7 erfolgt die Analyse der Metaboliten mittels HPLC-MS.

Establishment of a single-cell spatial transcriptomics workflow for isolating individual cells on a spatial omics sequencing chip from forensic-gynecological swabs



Diplomandin Deborah Carnibella

Korrektorinnen ZHAW Dr. sc. Nat. Adisa Trnjanin, Agnieszka Wengi

Korrektor extern Felix Kurth, CSEM

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Zürich durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Einfluss von Macromolecular Crowding auf die extrazelluläre Matrixdeposition von Astrozyten: Standardbedingungen und Prolylhydroxylase-Hemmung



Diplomandin

Jelena Cvejic

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. med. Michael Raghunath, BSWc Britta Striegl

Makromolekulares Crowding (MMC) nimmt eine entscheidende Rolle in der Regulation der extrazellulären Matrix (ECM) ein. Ziel dieser Arbeit war es, mit makromolekularem Crowding (MMC) als in vitro Modell die Kollagenablagerung im extrazellulären Raum von Astrozyten zu untersuchen und eine fibroseähnliche Matrix zu modellieren. Dabei sollte zunächst die Hypoxie durch Stabilisierung von HIF-1 α nachgewiesen und der Einfluss einer Prolylhydroxylase-Hemmung mit Hydralazin auf die ECM bewertet werden. Die Versuche erfolgten zuerst an Astrozytenzelllinien und anschließend an primären Astrozyten, bei denen stärkere ECM-Ablagerung und GFAP-Expression erwartet wurden. Die Ergebnisse zeigen zunächst, dass unter Hydralazinbehandlung die erwartete Akkumulation von HIF-1 α im Zellkern nachgewiesen werden konnte. Dies bestätigt den erfolgreichen Nachweis einer induzierten Hypoxie. In der Folge führte die Verwendung eines 18 %igen (v/v) Ficoll-Gemischs zu einer signifikanten Steigerung von Kollagen I im extrazellulären Raum, wobei die Zuverlässigkeit der Kollagen I Färbung durch Positivkontrollen bestätigt wurde. Für Kollagen IV konnten aufgrund technischer Probleme bei Antikörpervalidierung und Fixierung keine einheitlichen Ergebnisse erzielt werden, weshalb dessen Validierung weiter optimiert werden muss. Die konstante

GFAP-Expression deutet darauf hin, dass keine ausgeprägte Astrozytenreaktivierung erfolgte. Zusammenfassend konnte ein robustes Modell etabliert werden, das MMC als effektiven Weg zur Beeinflussung der ECM-Ablagerung identifiziert und die Umsetzbarkeit einer HIF-1 α -Stabilisierung demonstriert. Diese Ergebnisse bilden eine wichtige Grundlage für zukünftige Studien zu fibrotischen Prozessen im zentralen Nervensystem und zur Entwicklung therapeutischer Ansätze unter kontrollierten MMC- und Hydralazin-Bedingungen.

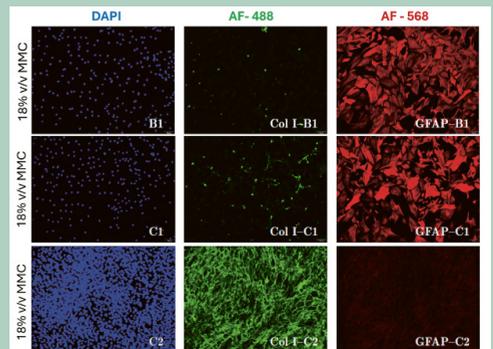


Abb. 1: Immunfluoreszenz mit Col I- und GFAP-Antikörpern. B1 & C1: Rattenastrozyten, C2: NHDF-Fibroblasten. Alle wuchsen im MMC-Medium, aber nur in C1 und C2 wurde Hydralazin dazugegeben.

Die Anwendung, Validierung und Optimierung der RNAScope-Methode zur Analyse von Astrozyten und Myelin im Kontext von Rückenmarkverletzungen



Diplomandin

Mara Dutly

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Michael Raghunath, MSc Agnieszka Wengi

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Regenera durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Rückenmarksverletzungen stellen eine schwerwiegende medizinische Herausforderung dar, da sie häufig zu dauerhaften neurologischen Funktionsverlusten führen. Die Regenerationsfähigkeit des adulten zentralen Nervensystems ist durch komplexe zelluläre und molekulare Reaktionen stark eingeschränkt. Gliazellen, insbesondere Astrozyten und Oligodendrozyten, spielen dabei eine zentrale Rolle. Reaktive Astrozyten bilden eine Glianarbe, die das Gewebe stabilisiert und umliegendes Gewebe schützt, aber axonales Wach-

tum hemmen kann. Oligodendrozyten, verantwortlich für die Bildung und Erhaltung von Myelin, werden durch die Verletzung geschädigt. Der Verlust von Myelin, das für die saltatorische Erregungsweiterleitung und die Stabilität von Axonen essenziell ist, führt zu neuronaler Degeneration und funktionellen Defiziten.

Ziel dieser Arbeit war die Etablierung und Validierung der RNAScope-Methode, einer modernen in-situ-Hybridisierungsmethode, zur Detektion der Genexpression von Gfap, einem Astrozytenmarker, sowie Mbp, einem indirekten Myelinmarker, im Rückenmark. Dabei wurde Rückenmarksgewebe von verletzten und unverletzten Ratten verglichen, um transkriptionelle Veränderungen zu untersuchen. Die RNA-Hybridisierung wurde durch Immunfluoreszenz ergänzt, um die zelluläre Lokalisation und den Vergleich von mRNA- und Proteinebene zu ermöglichen.

Die Methode wurde am ICBT erfolgreich etabliert und optimiert. Im Rattenmodell zeigte sich eine erhöhte Gfap-Expression im verletzten Gewebe, was auf reaktive Astrogliose hinweist. Die Mbp-mRNA war gesteigert, während das Signal auf Proteinlevel unverändert blieb – ein Hinweis auf posttranskriptionelle Regulation. Die Ergebnisse bestätigen die Eignung der RNAScope-Methode zur Untersuchung zellulärer Reaktionen nach Rückenmarksverletzungen.

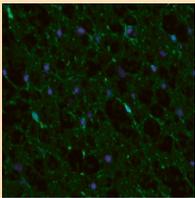


Abb. 1: Immunfluoreszenzfärbung von Schweinerückenmark zur Detektion von GFAP in der weissen Substanz. Blaues Signal: DAPI; Grünes Signal: GFAP.

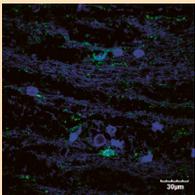


Abb. 2: RNAScope-Methode auf unverletztes Schweinerückenmark mit Gfap-Sonden, Darstellung des Gfap-Signals in der grauen Substanz. Blaues Signal: DAPI; Grünes Signal: Gfap-C1.

Methodische Verifizierung des BD FACSLyric™ Durchflusszytometers mittels TBNK-Analyse – Vergleich mit dem BD FACSCanto™ II



Diplomandin	Nadja Eggen
Korrektor ZHAW	PD Dr. René Köffel
Korrektorin extern	Dr. sc. ETH Monika Haubitz, MEDICA medizinische Laboratorien AG

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma MEDICA Medizinische Laboratorien AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Ziel war die methodische Verifizierung eines neuen Durchflusszytometers (BD FACSLyric™) anhand der TBNK-Analyse. Die erzielten Ergebnisse zeigen eine hohe Übereinstimmung mit einem etablierten Vergleichssystem (BD FACSCanto™ II) hinsichtlich Genauigkeit, Präzision und klinischer Anwendbarkeit. Die Untersuchung wurde nach den Vorgaben von ISO 15189, CLSI, QUALAB und Swissmedic durchgeführt und unterstützt die Einführung des Systems in die klinische Routinediagnostik.

Analyse von Erweiterungsmöglichkeiten der molekulargenetischen Diagnostik in der Onkologie



Diplomandin

Gzime Emrulai

Korrektor ZHAW

Dr. med. Emanuel Zampiccoli

Korrektor extern

Dr. Ing. Michael Thelen, Hirslanden Precise

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Hirslanden Precise durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Ziel der Arbeit war es, eine Liquid Biopsy basierte Methode zur Analyse zellfreier DNA (cfDNA) für onkologische Fragestellungen in einem molekulargenetischen Labor zu etablieren. Zellfreie DNA hat sich in den letzten Jahren als vielversprechender Analyt in der Krebsdiagnostik etabliert. Insbesondere die Liquid Biopsy bietet eine nicht-invasive Möglichkeit, tumorassoziierte Veränderungen im Blut zu erkennen. Diese Methode gewinnt zunehmend für die Verlaufskontrolle und die Therapiebegleitung bei Krebserkrankungen an Bedeutung. Liquid Biopsy bezeichnet eine Blutuntersuchung, bei der unter anderem cfDNA von fragmentierten Tumorzellen detektiert

werden kann. Für die Etablierung der Methode in einem akkreditierten Labor wurde der gesamte Analyseprozess von der Präanalytik bis zur Auswertung validiert. In der Präanalytik kamen spezielle Blutentnahmeröhrchen zum Einsatz, welche die Stabilität der cfDNA gewährleisten. Anschliessend wurde die DNA extrahiert und mittels Next Generation Sequencing (NGS) analysiert. Zur Bewertung der Reproduzierbarkeit wurden drei unabhängige Library Präparationen durchgeführt. Die Ergebnisse bestätigten die Stabilität und Zuverlässigkeit des Workflows. Die Zielgruppe der Untersuchung waren Brustkrebspatient:innen. Im Rahmen der Arbeit wurden auch die Entstehungsmechanismen dieser Erkrankung näher betrachtet. Die Methode zeigt ein vielversprechendes Potenzial für die zukünftige Anwendung, insbesondere im Bereich der Früherkennung. Um jedoch eine frühzeitige und klinisch verwertbare Detektion von Tumoren zu ermöglichen, sind weitere methodische Optimierungen erforderlich. Dank der schonenden Probengewinnung könnte cfDNA künftig auch in weiteren onkologischen Anwendungsgebieten eingesetzt werden. Darüber hinaus ist ein breiterer Einsatz in der pränatalen Diagnostik (NIPT) möglich, in welcher cfDNA bereits als Standardverfahren hauptsächlich zur Erkennung von Chromosomenaberration etabliert ist.

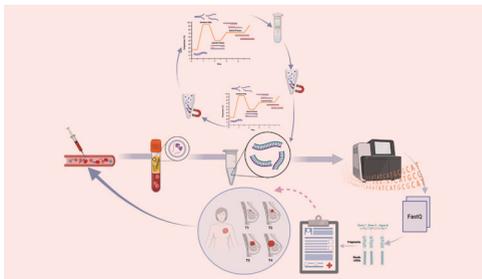


Abb. 1: Schematische Darstellung des Analyseprozesses von der Präanalytik bis zur Befundübermittlung. Eigene Darstellung.

Anwendung, Validierung & Optimierung der RNAScope-Methode zur Analyse von Oligodendrozyten & Myelin im Kontext von Rückenmarkverletzungen



Diplomandin

Loredana Marinette Falcone

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. med. Michael Raghunath, MSc. Agnieszka Wengi

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Regenera durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

In dieser Bachelorarbeit wurde die Anwendung, Validierung und Optimierung der RNAScope-Methode zur Analyse von Oligodendrozyten und Myelin im Kontext von Rückenmarksverletzungen durchgeführt. Ergänzend kam die indirekte Immunfluoreszenz zum Einsatz. Beide Methoden erwiesen sich als zuverlässig zur Lokalisation der Zielstrukturen. Rückenmarksverletzungen betreffen weltweit Millionen Menschen und führen zu sensorischen und motorischen Ausfällen. Ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden zellulären Prozesse ist entscheidend für zukünftige Therapieansätze.

Untersucht wurden die Genexpression und die Lokalisation von *Olig2* und *Mbp* in gesundem und verletztem Rückenmark. Die *Olig2*-Expression wurde mit der RNAScope-Methode sowohl im unverletzten Schweine- als auch im unverletzten und verletzten Rattenrückenmark analysiert, während die *Mbp*-Expression nur an Rattengewebe untersucht wurde. Die Gewebsschnitte wurden 24 Stunden Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet, mit RNAScope-Sonden hybridisiert und mittels

Fluorophoren markiert. Auf separaten Gewebsschnitte erfolgte die Inkubation mit Antikörpern gegen *Olig2* und *Mbp* zur Orientierung und Proteinlokalisierung durch Immunfluoreszenz.

Die RNAScope-Methode ermöglichte eine zuverlässige Detektion von *Olig2*- und *Mbp*-mRNA. Positivkontrollen zeigten erwartete Signale, während die Negativkontrolle frei von unspezifischer Bindung war. Die Immunfluoreszenz bestätigte eindeutig die Demyelinisierung. Obwohl die Methode gut geeignet ist, erschwerten Signalüberlagerungen benachbarter Zellen die genaue Zellidentifikation.

Für zukünftige Untersuchungen wird die Kombination von RNAScope, Immunfluoreszenz und einem Zellmembranmarker empfohlen, um *Olig2* und *Mbp* zelltypspezifisch auf demselben Schnitt darzustellen.

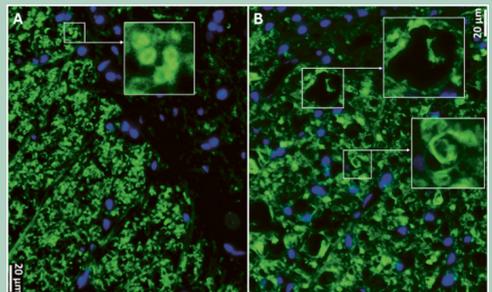


Abb. 1: Immunfluoreszenz *Mbp* in Grün. A) das unverletzte; B) das verletzte Gewebe. B) wird die Demyelinisierung durch unförmiges Myelin und Löcher zur Erkennung gebracht.

Charakterisierung der CD105-negativen und CD105-positiven Subpopulationen der Hybrid-stromalen vaskulären Fraktion (Hybrid-SVF) aus subkutanem Fettgewebe



Diplomandin

Pina Loredana Gallo

Korrektor/-in ZHAW

Bianca Fischli, Prof. Dr. Michael Raghunath

Rückenmarksverletzungen gehen häufig mit schweren neurologischen Ausfällen und einer reduzierten Lebenserwartung einher. Trotz weltweit jährlich rund 580'000 neu auftretender Fälle steht bislang keine kurative Therapie zur Verfügung. Adipose Derived Stem Cells (ADSCs) aus der Hybrid-Stromal Vaskulären Fraktion (Hybrid-SVF) von subkutanem Fettgewebe gelten aufgrund ihrer immunmodulatorischen Eigenschaften sowie der minimalinvasiven Gewinnung via Liposuktion als vielversprechend für zellbasierte Therapieansätze bei Rückenmarksverletzungen.

ADSCs werden üblicherweise durch die Expression spezifischer Oberflächenmarker, darunter CD105, definiert. Neuere Studien deuten jedoch darauf hin, dass innerhalb der ADSCs eine CD105-negative Sub-

population existiert, die potenziell gleichwertige oder sogar überlegene therapeutische Eigenschaften besitzt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Hybrid-SVF mittels Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS) in CD105-positive und -negative Zellfraktionen unterteilt. Anschliessend erfolgte eine phänotypische (CD73, CD90) Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie und Immunfluoreszenz sowie eine funktionelle Analyse hinsichtlich der Differenzierbarkeit in die adipogene, osteogene und chondrogene Zelllinie.

Die Ergebnisse zeigen, dass die CD105-Expression kultivierungsabhängig ist, mit zunehmender Passagenzahl ansteigt und bei beginnender Zellseneszenz wieder abnimmt. Zwischen den CD105-Subpopulationen konnten weder Unterschiede in der Expression der ADSC-assoziierten Marker CD73 und CD90 noch in der multipotenten Differenzierbarkeit festgestellt werden.

Diese Resultate legen nahe, dass CD105 als Definitionskriterium für ADSCs überdacht werden sollte, da auch CD105-negative Subpopulationen funktionelle, therapeutische Relevanz aufweisen. Die Arbeit liefert damit eine Grundlage für weiterführende funktionelle Analysen mit dem Ziel, das therapeutische Potenzial von ADSCs im Kontext von Rückenmarksverletzungen effizienter zu nutzen.

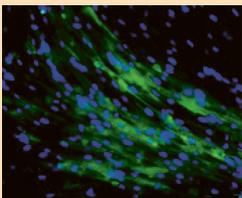


Abb. 1: Immunfluoreszenznachweis von CD73 auf CD105-negativen ADSCs.

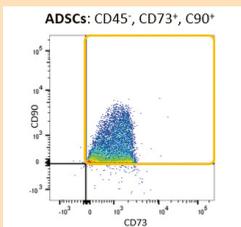


Abb. 2: Durchflusszytometrischer Nachweis der Expression von CD90 und CD73 auf der CD105-negativen ADSC-Population.

Methodenumstellung der Tumormarkerbestimmung mit Parallelmessung zur Sicherstellung der Patientensicherheit



Diplomand	Erwin Gisler
Korrektorin ZHAW	Dr. Sylvia Kaap-Fröhlich
Korrektorin extern	PD Dr. phil. Joanna Gawinecka, Institut für Klinische Chemie, USZ

Die Arbeit befasst sich mit den methodischen und organisatorischen Aspekten der Umstellung ausgewählter Tumormarker von der Spezialanalytik in die Allgemeine Analytik am Institut für Klinische Chemie (IKC) des Universitätsspitals Zürich (USZ). Ziel war die Integration neuer Messverfahren in das Laborinformationssystem, die technische Implementierung sowie die analytische Vergleichbarkeit zwischen dem bisherigen B·R·A·H·M·S KRYPTOR GOLD-System und dem Hochdurchsatzanalysator Roche Cobas e801, exemplarisch am Tumormarker CA 19 9. Tumormarker wie CA 19-9 weisen eine hohe strukturelle und biologische Heterogenität auf. Unterschiede in Zielstrukturen, Antikörperepitope und im Immunodesign der Hersteller führen trotz Referenzstandards zu methodenbedingten Konzentrationsunterschieden. Die fehlende Harmonisierung erschwert die Vergleichbarkeit und macht Parallelmessungen bei Methodenwechseln unerlässlich. Zur Beurteilung der Vergleichbarkeit wurden 120 Patientenproben parallel auf beiden Plattformen analysiert. Trotz hoher Korrelation ($r = 0,983$) zeigten sich signifikante systematische und proportionale Abweichungen (Steigung: 1.144; Achsenabschnitt: -6.33). Im klinisch relevanten Bereich <40 kU/l wies die Roche-Methode im Mittel rund 20 % niedrigere Werte auf, bei deutlich asymmetrischer Streuung. Dies verdeutlicht die

mangelnde Austauschbarkeit und die Notwendigkeit methodenspezifischer Referenzbereiche. Eine ergänzende retrospektive Analyse zeigte, dass CA 19-9 im klinischen Alltag oft häufiger bestimmt wird als von Leitlinien empfohlen, besonders in der frühen postoperativen Phase. Diese Erkenntnis floss in die Festlegung des Zeitraums für Parallelmessungen ein. Die Ergebnisse liefern eine evidenzbasierte Grundlage für die standardisierte Integration weiterer Tumormarker. Sie betonen die Bedeutung qualitätsgesicherter Umstellungsprozesse, um Fehleinschätzungen zu vermeiden und die Patientensicherheit zu gewährleisten.

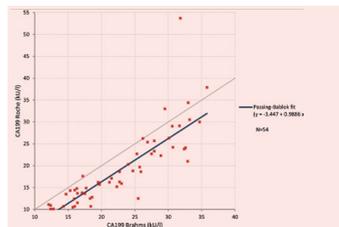


Abb. 1: Passing-Bablok-Regression der Parallelmessung des CA 19 9 im Bereich 7.2 40 kU/l (Brahms).

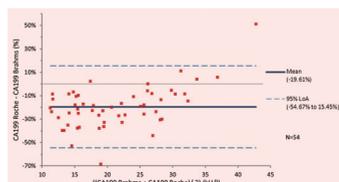


Abb. 2: Bland-Altman-Diagramm der Parallelmessung des CA 19 9 im Bereich 7.2 40 kU/l (Brahms).

Extension of an analytical method to include the metabolite 6-oxopipercolic acid for improved diagnosis of Antiquitin deficiency



Diplomandin	Sandrine Goetz
Korrektor ZHAW	Dr. Sandro Manni
Korrektor extern	Dr. Martin Poms, Kinderspital Zürich

The current method for diagnosis of Antiquitin deficiency (ATQ-deficiency) is the detection of α -Amino adipic semialdehyde (AASA) and its cyclic form delta-1-piperidin-6-carboxylate (P6C). Both biomarkers are known to deteriorate at room temperature particularly when exposed to light, potentially resulting in false negatives. Furthermore, while AASA is exclusively detectable in urine, the novel biomarker 6-oxo pipercolic acid (6-oxo PIP) is more stable and additionally elevated in plasma. The integration of 6-oxo PIP into the current liquid-chromatography with mass spectrometry (LC-MS/MS)-method is expected to solve the encountered stability problems and simplify the pre analytics. This bachelor thesis aims to improve the diagnostic tools of ATQ-deficiency by validating the novel biomarker 6-oxo PIP, including conducting stability experiments and determining its cut-off value. The integration of 6-oxo PIP required the establishment of a new calibration curve, which showed a linearity of $r^2 > 0.99$, a correlation with the primary calibration of > 0.98 , and a Passing-Bablok regression slope between 0.95 and 1.04. To demonstrate precision, inter-day and intra-day measurements were conducted using quality controls (QC), and the results were found to be valid.

Accuracy could not be assessed due to the absence of enough external QCs. The stability experiments were conducted over

the course of a week, and QCs, representing urine and plasma, were measured under various storage conditions and remained stable regardless of storage. The cut-off value was set at the 95th percentile of each control group (plasma $n=16$, urine $n=54$) and compared to known ATQ-deficiency patients. The successful integration of 6-oxo PIP into the existing method represents a significant advancement in the diagnosis of ATQ-deficiency, although further accuracy testing remains necessary.

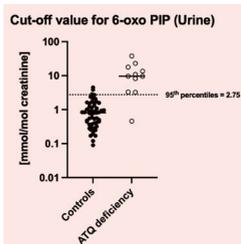


Fig. 1: Comparison of control group and pathological group. The data was expressed on a logarithmic scale (\log_{10}). On the left are the control samples showing three outliers above the cut-off-line at 2.75 mmol/mol creatinine. On the

right the pathological samples are exhibited, showing one outlier under the cut-off-line.

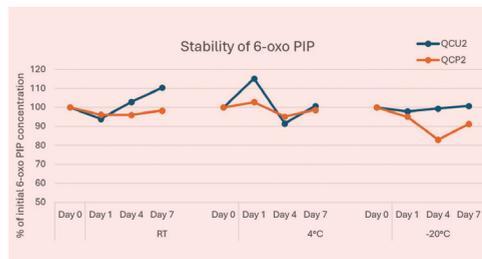


Fig. 2: The stability testing revealed that 6-oxo PIP is stable for seven days under any storage conditions, which simplifies logistical sample handling and reduces the likelihood of false negatives.

Adhäsion von *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) an Nanofasern



Diplomandin

Catarina Gomes Pacheco

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Christian Adlhart, Dr. Ramon Eichenberger

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Avelo durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

In dieser Bachelorarbeit wurde untersucht, wie gut sich Bakterien des *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) – ein abgeschwächter Tuberkulose-Impfstamm – an verschiedenen Nanofasermaterialien anlagern (adhärieren) und wieder ablösen lassen. Ziel war es, ein geeignetes Filtermaterial für den Einsatz in der Tuberkulosedagnostik zu identifizieren.

Für die Versuche wurden BCG-Bakterien verwendet, die mit einem grün fluoreszierenden Protein markiert wurden, um ihre Erkennung zu erleichtern. Als Analysemethode diente die Durchflusszytometrie –

ein schnelles und unkompliziertes Verfahren zur quantitativen Analyse von Zellen und Partikeln. Getestet wurden drei unterschiedliche Nanofasermaterialien: Polyamid 6 (PA6), Polyvinylalkohol (PVA) und Polyvinylidenfluorid (PVDF), die jeweils auf Trägervliese aufgebracht wurden.

Die zentrale Fragestellung lautete, ob diese Materialien in der Lage sind, BCG-Bakterien effizient zu binden und bei Bedarf auch wieder freizugeben – ein entscheidender Aspekt für ihre mögliche Anwendung in diagnostischen Testsystemen. Die Ergebnisse zeigen, dass insbesondere PA6- und PVA-basierte Filter eine gute Adhäsion sowie eine verlässliche Freisetzung der Bakterien ermöglichen.

Die Durchflusszytometrie erwies sich dabei als sinnvolle Methode für eine erste Einschätzung der Adhäsionseigenschaften. Für eine klinisch belastbare Diagnostik sind jedoch weiterführende, quantitative Verfahren notwendig, um das tatsächliche Vorhandensein von BCG zuverlässig nachzuweisen.

Diese Arbeit liefert somit einen ersten Beitrag zur Entwicklung sensitiver Filtermaterialien für den Einsatz in der Tuberkulose-Diagnostik.

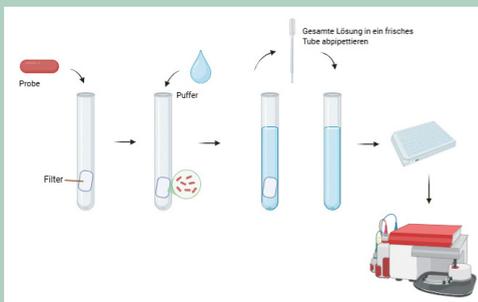


Abb. 1: Adhäsionsexperiment mit BCG Quantifizierung mittels Durchflusszytometrie.

Development of a quantitative PCR assay for all six known *Phytobacter* species



Diplomandin

Vera Margarita Gomez

Korrektoren ZHAW

Dr. Fabio Rezzonico, Prof. Dr. Theo H.M. Smits

In 2013, a multi-state septicaemia outbreak in Brazil was initially attributed to *Pantoea agglomerans*, but subsequent investigations identified *Phytobacter diazotrophicus* as the true culprit. This case parallels a similar event in the 1970s, during which *Phytobacter* species were misidentified as isolates belonging to the genera *Erwinia* and *Enterobacter*. Similar outbreaks have occurred worldwide over the past five decades, emphasizing the critical importance of developing precise molecular tools for the accurate detection of *Phytobacter* species.

Previously, a genus-specific qPCR assay targeting the nitrogen fixation (*nif*) gene was developed to detect four *Phytobacter* species: *P. diazotrophicus*, *P. ursingii*, *P. brasiliensis*, and *P. palmae*. However, two recently described species within the same genus, *P. cepae* and *P. massiliensis*, lack the *nif*-gene, rendering the existing assay incapable of detecting them and exposing a diagnostic breach that necessitates a more comprehensive molecular approach. The present study aimed to address this gap by developing and validating a qPCR assay capable of detecting all six known *Phytobacter* species. Through comparative genomics, conserved gene regions unique to the *Phytobacter* genus were identified. Primer pairs designed from these regions were tested across multiple strains via PCR,

with only one pair exhibiting strong amplification and high specificity. This primer pair consistently and exclusively amplified DNA from *Phytobacter* strains, as confirmed by both conventional PCR and qPCR. (Figure 1) Using purified DNA as a template, the qPCR assay exhibited excellent linearity over 6-log units, high amplification efficiency, and sensitivity, with a detection limit as low as two genome equivalents. These results validate the assay's reliability in identifying all six tested *Phytobacter* type strains.

This study introduces the first genus-wide qPCR assay capable of detecting and quantifying all six recognized *Phytobacter* species, representing a significant advancement in the accurate identification of this genus. Future research should focus on optimizing assay conditions and validating its performance across a broader range of environmental and clinical isolates.



Fig. 1: Primer pair validation by PCR, showing specific amplification exclusively in *Phytobacter* strains, with no bands observed in non-*Phytobacter* controls. This specificity renders the primer pair suitable for subsequent qPCR analysis.

Development of a pilot antibody-detection test for the rapid diagnosis of liver fluke infection in bovine milk samples



Diplomandin

Michelle Gorupec

Korrektoren ZHAW

Dr. Ramon Eichenberger, Dr. Philipp Kronenberg

Fasciola hepatica is a zoonotic parasite with significant impact on livestock health and productivity. Current diagnostics rely on faecal egg detection, which lacks sensitivity during early infection. Although serological methods allow earlier detection, they require laboratory infrastructure. This highlights the need for rapid, on-farm diagnostics. Milk offers a non-invasive alternative for antibody-based detection. This study aimed to develop a prototype assay for a rapid, milk-based antibody

detection for *F. hepatica* in cattle. Five candidate antigens (*in house* F2 antigen, novel native S2 antigen, ESP, recombinant FhSAP-2 and FhFABP) were validated by ELISA, and the optimal assay conditions including coating antigen concentration, serum and conjugate dilutions, were established. Using the optimised protocol, a serum collection of 225 abattoir samples was analysed and the most suitable antigens were identified by ROC analysis in comparison to the commercial IDEXX test kit based on native F2 antigen. There, a test detecting bovine IgG1 outperformed the detection based on other isotypes. To assess the applicability in milk, spiked milk samples were tested by ELISA. Next, dot-blot assays with serum and milk were performed and optimised for improved compatibility with milk. Finally, a lateral flow assay (LFA) prototype was developed using bovine IgG1 for the control line and Protein G Gold as detection. F2 antigen was applied as best performing test antigen with various LFA pad treatments and chase buffers. Based on the initial experiments, the control line could be reliably detected under optimised conditions. However, no signal was observed in the presence of serum and milk. Further LFA-optimisation is required to improve compatibility with sample matrices such as serum and milk.

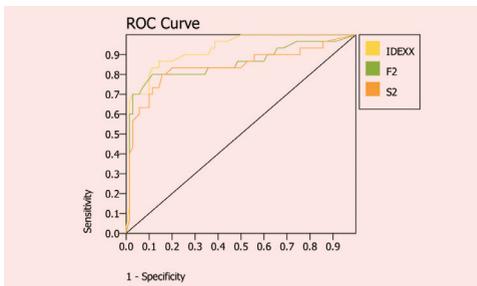


Fig. 1: ROC comparison of the ELISA performance of antigens F2, S2 and the commercial IDEXX Test. The area under the curve (AUC) values were 0.92 for IDEXX test, 0.86 for F2 and 0.84 for S2.

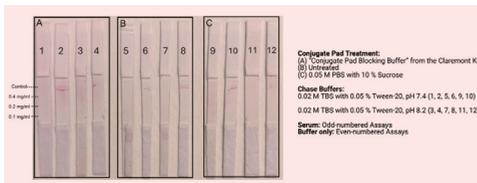


Fig. 2: LFA experiments testing F2 antigen (0.4 mg/ml, 0.2 mg/ml and 0.1 mg/ml) with serum samples and various conjugate and chase buffers. Bovine IgG1 (0.25 mg/ml) was applied as control line.

Improved diagnosis of Lyme disease in children through the development of a *Borrelia*-specific antibody-secreting cell ELISpot assay



Diplomandin	Lisa Maria Greiter
Korrektorin ZHAW	Dr. sc. nat. Adisa Trnjanin
Korrektoren extern	PD Dr. Dr. med. Patrick M. Meyer Sauter and Dr. Sc. Semjon Sidorov, University Children's Hospital Zurich

The described project is subject to confidentiality requirements. It was conducted in collaboration with the University Children's Hospital Zurich. Due to confidentiality constraints, the work is only summarized.

Lyme disease (LD) is a tick-borne disease caused by different genospecies of the *Borrelia burgdorferi sensu lato complex* and has a broad spectrum of different manifestations affecting the skin, nervous system, joints or the heart. Current *Borrelia* detection methods have several drawbacks. Serum antibodies against *Borrelia* appear delayed after symptoms onset and may be false negative in early stages of the disease. Specific serum antibodies as well as *Borrelia* DNA may persist for months to years after infection. This makes it difficult to distinguish between acute

and previous infection. *Borrelia* culture is elaborate and time consuming and has a low rate of success due to low rates of bacteria in body fluid. Overall, there is an unmet clinical need for improved LD diagnostics. Antibody secreting cells (ASCs) are B cells that produce pathogen-specific antibodies and circulate in peripheral blood for approximately two weeks during active infection, prior to seroconversion. We hypothesize that *Borrelia*-specific ASCs are detectable early after infection even before *Borrelia*-specific serum antibodies appear and that they are short lived and circulate in peripheral blood only for a certain time.

The aim of this project was to establish an enzyme-linked immunospot (ELISpot) assay to detect *Borrelia*-specific antibody secreting cells (ASCs) in blood of children with LD to be potentially used as LD diagnostic tool. Venous blood samples from children diagnosed with LD were collected and PBMCs were isolated by gradient centrifugation. To detect *Borrelia*-specific ASCs an ELISpot assay was developed and different settings regarding antigen concentration and type as well as cell concentration were tested to determine most suitable assay set up. More details about ELISpot procedure are illustrated in Figure 1. Due to confidentiality constraints we cannot report results here at this stage.

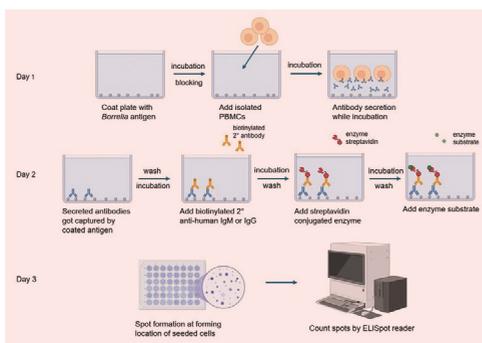


Fig. 1: Figure 1. Schematic assay procedure of an antibody-secreting cell (ASC) enzyme-linked immunospot (ELISpot) assay (Greiter, L.M., 2025).

Identifizierung der kritischen Parameter des Planar umuC Test – theoretische und praktische Prüfung zur Vorbereitung einer Validierung



Diplomandin

Lea Gugganig

Korrektor/-in ZHAW

Dr. Evelyn Wolfram, Dipl. Biol. Andreas Schönborn

In der Umwelt existieren zahlreiche DNA-schädigende Substanzen, oftmals in geringen Konzentrationen oder komplexen Stoffgemischen, welche durch Exposition beim Menschen genotoxische sowie kanzerogene Wirkungen entfalten können. Die Bewertung dieser Substanzen spielt eine zentrale Rolle in der Umweltanalytik sowie in der Lebensmittelindustrie. Der umuC-Test in Kombination mit der Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC) bietet eine vielversprechende Methode zur Detektion von genotoxischen Substanzen in Stoffgemischen.

Die meisten Bakterien haben als Reaktion auf DNA-Schäden ein sogenanntes SOS-System entwickelt, welches bei dieser Methode ausgenutzt wird. Der umuC-Test basiert auf dem Bakterienstamm *Salmonella typhimurium*, der ein umuC:lacZ-Fusionsgen trägt, welches für das Enzym β -Galactosidase kodiert. Durch DNA-Schäden wird das Fusionsgen im Rahmen der SOS-Antwort aktiviert, was zur Expression des Enzyms führt. Die Aktivität der β -Galactosidase kann anschliessend durch Umsetzung eines Substrats in ein messbares Farbsignal umgewandelt und detektiert werden. Je mehr DNA-Schäden vorhanden sind, desto stärker wird das Signal.

Ziel dieser Arbeit war es, die bestehende Literatur auszuwerten, kritische Parameter zu identifizieren und diese in einem weiteren Schritt experimentell zu überprüfen und optimieren.

Basierend auf der bestehenden Literatur und der anschliessenden Durchführung der Versuche wurden kritische Parameter identifiziert und optimiert.

Die gewonnenen Erkenntnisse liefern wertvolle Anhaltspunkte für eine anstehende Validierung.

Investigation of Serpin-Protease Complex Formation for Functional Proteomics



Diplomandin

Anna Hasenfratz

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Sandro Manni, Dr. Ivana Kroshlakova

Serine protease activity is associated with the development and progression of various diseases. Therefore, functional proteomics approaches such as activity-based protein profiling (ABPP) are gaining increasing relevance in the field of biomarker discovery. In this context, the Clinical Chemistry group of ZHAW is pursuing a novel strategy employing physiological serine protease inhibitors (serpins) as activity-based probes (ABPs). Their covalent nature of inhibition and the broad spectrum of protease interactions make them well suited for integration into ABPP workflows.

In this thesis, we aimed to characterize the formation of covalent serpin-protease complexes under defined experimental conditions. Additionally, we evaluated suitable reaction conditions and analytical methods for their reliable detection. Furthermore, we sought to establish a sustainable source of recombinant serpins through their expression in HEK293T cells. We performed inhibition assays and complex formation studies using plasma kallikrein (KLKB1) as a model protease and the serpins SERPINC1, SERPINA5, and SERPINE1. Complex formation was verified and analyzed using SDS-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry.

SERPINC1 and SERPINA5 effectively inhibited KLKB1 in a heparin-dependent

manner, with SERPINA5 achieving complete inhibition even under plasma-like crowding conditions. In contrast, SERPINE1 neither inhibited KLKB1 nor formed detectable complexes. SDS-PAGE and MALDI-TOF MS confirmed the formation of stable serpin-protease complexes, which required active KLKB1. In our model system using SERPINC1 and KLKB1, increasing the concentrations of both reactants promoted more efficient complex formation, and a serpin excess of more than fivefold further enhanced the reaction efficiency. Expression of recombinant serpins in HEK293T cells was successful for two of the six transfected SERPIN constructs. The functionality of the obtained serpins remains to be determined. Although we established key parameters of serpin-protease interactions, further investigation involving different serpins is necessary to address the variability in optimal reaction conditions and target specificity.

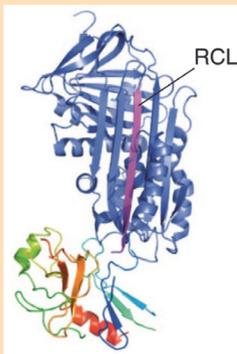


Fig. 1: Covalent complex formation between antitrypsin (blue/violet) and trypsin (multicolored), displaying the unique inhibition mechanism of serpins.
Source: <https://doi.org/10.1186/gb-2006-7-5-216>.

Evaluation der Bestimmung von Alkoholmissbrauchs- substanzen im Serum (EtG) resp. EDTA-Blut (PEth)



Diplomandin	Nicole Hirt
Korrektor ZHAW	Dr. Sandro Manni
Korrektorin extern	Carmen Bürki, MEDICA Med. Laboratorien AG

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma MEDICA Med. Laboratorien AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Diese Bachelorarbeit beschäftigt sich mit der Evaluation von zwei Analysekits zur Bestimmung von Ethylglucuronid (EtG) und Ethylsulfat (EtS) in Serum sowie Phosphatidylethanol (PEth) in EDTA-Vollblut. Chronischer Alkoholmissbrauch ist nicht nur medizinisch, sondern auch juristisch von Bedeutung. Da Ethanol im Blut nur kurzzeitig nachweisbar ist, bieten direkte Marker wie EtG/EtS und PEth sowie der indirekte Marker Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) eine verlässliche Möglichkeit, Alkoholkonsum auch rückwirkend zu beurteilen. Ziel der Arbeit war es, das EtG/EtS-Kit von Recipe® (Serum) sowie das

PEth-Kit von ARCHImedline® (EDTA-Vollblut) hinsichtlich ihrer Eignung für die klinische Routinediagnostik zu evaluieren. Um die Präzision, Richtigkeit und Reproduzierbarkeit zu beurteilen wurden Interday- und Intraday-Bestimmungen sowie Methodenvergleiche durchgeführt. Zusätzlich wurden in einer Fallstudie Patientenproben analysiert und ihre Alkoholmarker EtG, PEth und CDT miteinander verglichen. Das EtG/EtS-Kit zeigte sehr gute analytische Eigenschaften. Sowohl bei der Intra- als auch der Interday-Bestimmung lagen die Ergebnisse klar innerhalb des Akzeptanzkriteriums (< 15 %). Die Methode weist eine hohe Korrelation mit einem etablierten Vergleichsverfahren auf und ist damit für die Routine geeignet. Das PEth-Kit erfüllte die Anforderungen in Bezug auf Präzision, zeigte jedoch bei der Wiederfindung im Methodenvergleich starke Abweichungen sowie Hinweise auf einen systematisch proportionalen Fehler. Weiterführende Tests mit einem anderen Partnerlabor und mit Ringversuchsproben ist zu empfehlen.

PEth ist aufgrund seiner längeren Nachweisbarkeit und hohen Spezifität besonders geeignet für das Konsummonitoring, EtG bleibt hingegen sensitiver gegenüber kurzfristigem Konsum, und kann aufgrund seiner hohen Sensitivität durch externe Alkoholquellen beeinflusst werden. Für die Verlaufsbeurteilung bietet PEth Vorteile gegenüber indirekten Markern wie CDT.

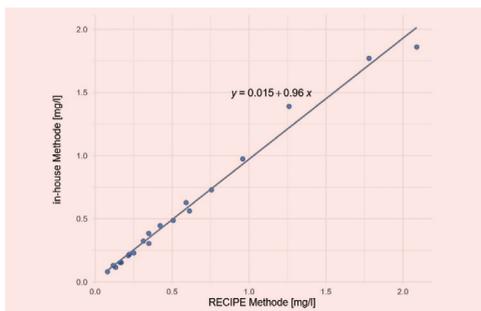


Abb. 1: Lineare Regression für EtG aus dem Methodenvergleich der Recipe® (x-Achse) und in-house (y-Achse) Methode.

Die Verwendung von Large Language Models zur automatischen Extraktion und Klassifikation des Patientengesundheitsstatus anhand der Pflegedokumentation



Diplomandin

Ka Men Ho

Korrektoren ZHAW

Dr. Samuel Wehrli, Dominik Kunz

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit Universität Spital Basel durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Pflegedokumentationen werden täglich für jeden hospitalisierten Patienten erstellt. Diese Berichte enthalten wichtige Informationen zur Pflegequalität und zum Gesundheitszustand der Patienten. Besonders in den Freitextfeldern finden sich häufig erste Hinweise auf eine mögliche Verschlechterung des Zustands. Daher ist es wichtig, die Freitextinhalte sowohl klinisch als auch in der Forschung zu nutzen. Das Lesen der Freitexteingaben ist jedoch zeitaufwendig und erschwert die Nutzung dieser Ressource. Ziel dieser Arbeit ist es, den Gesundheitsverlauf innerhalb von 12 Stunden aus Freitexten mittels Large Language Models (LLMs) zu extrahieren und zu klassifizieren. Dabei wird das LLM ohne Feineinstellung, nur mittels Eingabeaufforderung (Prompt), auf diese Aufgabe angewendet und validiert. Zwei Prompt-Designs wurden verwendet, nämlich Thread of Thoughts (ThoT) und Zero-Shot. Der Aufbau dieser beiden Designs ist in Abbildung 1 dargestellt. Zur Leistungsbewertung der Prompts wurden vier gängige Metriken verwendet: Accuracy, F1-Score, Recall und Precision. Die Ergebnisse wurden mit manuellen Klassifizierungen

verglichen. Dabei erwies sich der iterative Prozess aus Prompt-Erstellung und Analyse als hilfreich, um den gewünschten Prompt zu finden. Die Ergebnisse zeigen, dass ThoT die Zero-Shot-Varianten übertrifft. Die Robustheit des besten Prompts wurde durch 50 Durchläufe auf 48 Dokumentationsintervalle geprüft und ergab ein zufriedenstellendes Ergebnis. Die Studie liefert wertvolle Erkenntnisse für die klinische Praxis und Forschung, insbesondere hinsichtlich einer automatisierten Beurteilung des Gesundheitszustands anhand von Pflegedokumentationen. Dennoch gibt es Einschränkungen, wie lange Generierungszeiten und ein unausgewogenes Datenset, das die Bewertung seltener Klassen erschwert. Weitere Forschung ist notwendig, um die Ergebnisse zu präzisieren und auf breitere Anwendungsszenarien zu übertragen.

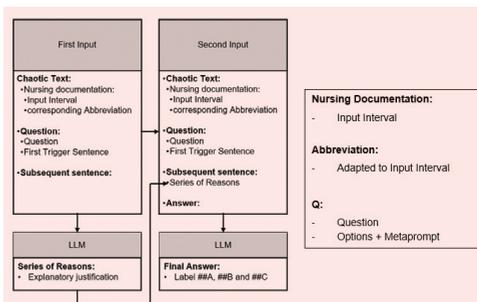


Abb. 1: Aufbau des Zero-Prompts (links), Aufbau des Thread of Thoughts (rechts).

Ectopic expression of diagnostic and immunization-relevant antigens in *Toxoplasma gondii* tachyzoites



Diplomandin	Ramona Mirjam Hofstetter
Korrektor ZHAW	Dr. Ramon Eichenberger
Korrektor/-in extern	Prof. Adrian Hehl und Dr. Chandra Ramakrishnan, Institut für Parasitologie, Universität Zürich

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Gruppe Molekulare Parasitologie des Instituts für Parasitologie der Universität Zürich durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Toxoplasma gondii gehört zu der Gruppe der Apikomplexa und ist ein einzelliger Parasit. Er befällt warmblütige Wirbeltiere, die als Zwischenwirte dienen, und bildet als chronische Phase Zysten im ZNS und in der Muskulatur. Im Endwirt, der Katze, findet die sexuelle Entwicklung statt, wodurch sich Oozysten bilden, die über den Kot ausgeschieden werden. In der Umwelt sporulieren diese Oozysten und werden dadurch infektiös. Die Oozysten sind sehr resistent und können in der Umwelt jahrelang überleben.

Sowohl Oozysten als auch Gewebezysten schützen die Parasiten vor Umwelt- oder Immuneinflüssen durch die Ausbildung extrazellulärer Wandstrukturen, die als physische Barriere dienen.

Mittels mRNA-Profilings über alle Phasen der Entwicklung hinweg wurden Gene identifiziert, die in diesen beiden Zystenstadien exprimiert werden und möglicherweise an der Ausbildung protektiver Strukturen beteiligt sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mehrere dieser identifizierten Gene mittels CRISPR/Cas9 entweder durch Knockout ausgeschaltet oder so modifiziert, dass das kodierte Protein mit einem HA-tag versehen ist. Diese transgenen Parasiten wurden anschliessend *in vitro* enzystiert, fixiert und mittels Immunfluoreszenzfärbung und konfokaler Mikroskopie phänotypisch untersucht, um die Lokalisation des Proteins zu bestimmen.

Vier ausgewählte Kandidaten mit bereits modifiziertem Genom für die Produktion von HA-getaggeten Kandidaten-Proteinen wurden des Weiteren so modifiziert, dass die entsprechenden Proteine ektopisch und stadienunabhängig exprimiert werden. Nach erfolgreicher Etablierung der transgenen Linien wurden die Parasiten ebenfalls mit einer Immunfluoreszenzfärbung und mit konfokaler Mikroskopie phänotypisch untersucht, in grossem Massstab kultiviert und die Proteine aufgereinigt.

Effizienzvergleich von Desinfektionsmitteln im mikrobiologischen Labor des Kantonsspitals Winterthur (vertraulich)



Diplomandin

Edita Idrizi

Korrektor ZHAW

Dr. med. Emanuel Zampiccoli

Korrektorinnen extern BMA HF Maja Pagano, Dr. med. Christine Gutmann

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Labormedizin im Kantonsspital Winterthur durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Die Flächendesinfektion ist ein zentraler Bestandteil der Infektionsprävention im mikrobiologischen Labor. Entscheidend ist dabei die Wahl eines geeigneten Desinfektionsmittels, das sowohl wirksam als auch anwenderfreundlich ist und den Schutz von Personal gewährleistet.

Ziel dieser Arbeit war es, die im mikrobiologischen Labor eingesetzten Desinfektionsmittel Ethanol 70 % denat. und Meliseptol® Rapid unter praxisnahen Bedingungen auf ihre Wirksamkeit zu prüfen, um zu bewerten, ob Ethanol 70 % denat. eine gleichwertige Alternative darstellen kann, ohne Einbußen bei der hygienischen Sicherheit in Kauf nehmen zu müssen.

Die Untersuchung basierte auf einer standardisierten, praxisnahen Prüfmethode, bei der definierte Referenzkeime aus unterschiedlichen mikrobiologisch relevanten Gruppen getestet wurden. Dazu zählen grampositive und gramnegative Bakterien, Hefepilze sowie Mykobakterien, die potenzielle Kontaminationen im klinischen Umfeld darstellen und aus

spitalhygienischer Sicht problematisch sein können. Die Erreger wurden mit und ohne organische Belastung gezielt auf einer Glasoberfläche getrocknet und anschliessend ohne mechanische Einwirkung mit einem Desinfektionsmittel mit unterschiedlichen Einwirkzeiten behandelt. Danach wurde die Anzahl koloniebildender Einheiten (KBE) unter den jeweiligen Bedingungen bestimmt und die erzielte Reduktion ausgewertet.

Zusätzlich erfolgten Neutralisationstest, um auszuschliessen, dass eine Restwirkung der Desinfektionsmittel die Ergebnisse verfälschen oder dass das Neutralisationsmittel selbst eine hemmende Wirkung auf die Erreger hat. Diese Validierung stellte einen wichtigen Bestandteil für zuverlässige Ergebnisse dar.

Insgesamt konnte die Bachelorarbeit einen Beitrag zur Optimierung von Flächendesinfektionsprozessen leisten und Entscheidungsgrundlagen für den sicheren Einsatz von Desinfektionsmittel im Laboralltag schaffen.

Kitvergleich zur RNA-/DNA-Extraktion mit Fokus auf manuelle Anwendung und Automatisierungspotenzial



Diplomandin	Shankavie Jeyanathan
Korrektor ZHAW	Dr. med. vet. Dr. sc. nat. Ramon Eichenberger
Korrektoren extern	PD Dr. Guido Bloemberg und Dr. Kevin Steiner, Institut für Medizinische Virologie, Universität Zürich

Ob in der Forschung oder in der Routine-diagnostik: Der zuverlässige Nachweis viraler Erreger beginnt mit der effizienten Extraktion von Nukleinsäuren. Ist dieser Schritt nicht optimal, kann dies die Nachweisgrenze negativ beeinflussen und die diagnostische Aussagekraft mindern. Besonders bei immunsupprimierten Patient:innen ist eine frühzeitige und verlässliche Diagnostik jedoch essenziell.

In dieser Arbeit wurden drei RNA-/DNA-Extraktionsmethoden hinsichtlich Effizienz, Reproduzierbarkeit und Praxistauglichkeit im diagnostischen Labor untersucht. Berücksichtigt wurden unter anderem die Stabilität der Ergebnisse bei unterschiedlicher Viruslast, die Handhabung sowie die Kosten pro Probe. Die Auswertung erfolgte anhand der Ct-Werte mittels Wilcoxon-Rangsummen-Test (mit Holm-Korrektur) sowie Effektstärkenanalyse (Cliff's Delta).



Abb. 1: Boxplots der logarithmierten Werte mit Mittelwert (weisser Kreis) und Median (Linie) für die drei getesteten Kits (eMAG®, Maxwell® HT, MagMAX™-Kits).

Die Resultate zeigen, dass alle getesteten Kits grundsätzlich für den Einsatz in der Diagnostik geeignet sind. Unterschiede bestehen jedoch hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit bei unterschiedlichen Viruslasten sowie in Bezug auf wirtschaftliche Aspekte und Handhabung. Die gewonnenen Erkenntnisse bieten eine praxisnahe Entscheidungsgrundlage für Labore. Gleichzeitig bilden sie eine wertvolle Grundlage für zukünftige Automatisierungen in der viralen Diagnostik.

Künftige Untersuchungen sollten prüfen, in welchen diagnostischen Kontexten welches Kit den grössten Nutzen bietet, um die Effizienz und Qualität molekularer Diagnostik weiter zu optimieren.

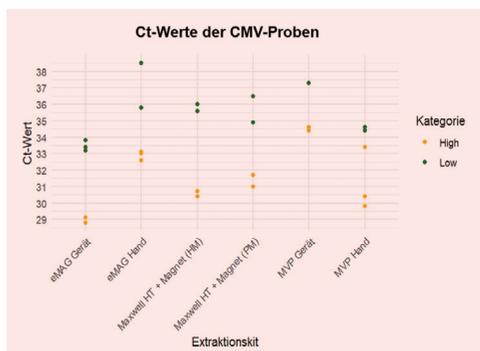


Abb. 2: Ct-Werte der CMV-Proben für die Extraktionskits unter Low (grün)- und High (orange) Konzentrationsbedingungen. Jeder Punkt stellt einen technischen Replikaturwert dar.

Die Beteiligung von Astrozyten an der Narbenbildung nach Rückenmarkverletzung (vertraulich)



Diplomandin

Priya Jose

Korrektor ZHAW

Prof. Dr. Michael Raghunath

In dieser Arbeit wurde ein *in vitro*-Modell zur Untersuchung der frühen Aktivierung von Astrozyten unter mechanischem und entzündlichem Stress entwickelt. Ziel war es, zelluläre Reaktionen zu analysieren, die mit der Ausbildung einer glialen Narbe im zentralen Nervensystem (ZNS) assoziiert sind. Verwendet wurden die humanen Astrozyten-Zelllinien SNB-19 und U87. Aufgrund der höheren GFAP-Expression und besser geeigneten Morphologie wurde SNB-19 als Hauptzelllinie eingesetzt. Als Kontrollzellen wurden NHDF-Fibroblasten eingesetzt. In einem weiteren Versuch wurden primäre Rattenastrozyten verwendet, da man weiss, da diese gut GFAP experimentiert.

Zur Stimulation wurden die Zellen mit TNF- α (5 und 10 ng/ml) behandelt und/oder mechanisch durch einen Scratch-Assay verletzt und unter molecular crowding-

Bedingungen kultiviert. Die astrozytäre Reaktion wurde mittels Immunfluoreszenzfärbung (GFAP, Kollagen I, DAPI) sichtbar gemacht. Die Ergebnisse zeigten, dass insbesondere TNF- α in 5 ng/ml und die Kombination mit Scratch zu einer erhöhten GFAP-Expression führten, was auf reaktiven Astrozyten hinweist. Eine Darstellung von Kollagen I in Astrozyten war nicht möglich, während Fibroblasten ein positives Signal zeigten. Primäre Rattenastrozyten reagierten deutlich stärker auf Reize als die Zelllinien.

Das Modell bietet ein einfaches, aber effektives System zur Untersuchung zellulärer Mechanismen der Glianarbenbildung. Es eignet sich als Grundlage für weiterführende Studien zu entzündlichen Prozessen und möglichen therapeutischen Ansätzen.

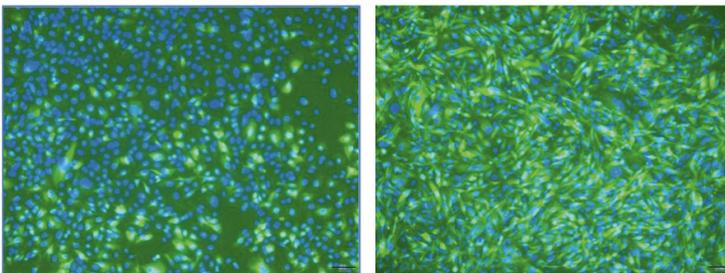


Abb. 1: GFAP -Immunfluoreszenz in SNB-19-Zellen. Links unbehandelte Zellen (ohne TNF- α und Scratch), gefärbt mit GFAP (grün) und DAPI (blau); GFAP-Expression sichtbar. Rechts: Zellen nach Behandlung mit TNF- α (5 ng/ml); deutlich erhöhte GFAP-Signalintensität als Hinweis auf reaktive Astrozytenaktivierung.

Genotyping of a retrospective collection of FFPE samples with cystic echinococcosis from patients in Bhutan



Diplomandin

Enya Jossen

Korrektoren ZHAW

Dr. Ramon Eichenberger, Dr. Philipp Kronenberg

Cystic echinococcosis (CE), caused by *Echinococcus granulosus* sensu lato, leads to cyst formation in organs such as the liver and lungs and remains a significant public health concern in endemic regions. Molecular genotyping of *E. granulosus* s.l. is essential for identifying different circulating strains, understanding transmission dynamics important for targeted control strategies. This study aimed to genotype *E. granulosus* s.l. in a retrospective series of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) human tissue samples collected in Bhutan from 2019 to 2025. Due to the fragmented and chemically modified nature of FFPE-derived DNA, extensive protocol optimization was necessary at multiple workflow stages, including sample pretreatment, prolonged enzymatic digestion and PCR refinement. PCR amplification targeting a shortened fragment (~400 bp) of the mitochondrial *cox1* gene was successful in 25 of 59 patients. Subsequent Sanger sequencing and BLAST alignment identified 23 samples as genotype G1 (sheep-strain) and 1 sample as G3 (water buffalo strain). One sample could not be distinguished between G1 and G3, as they are genetically very close. Additional measures such as template titration and re-amplification were employed to increase detection sensitivity in samples with low DNA quality. A genus-specific PCR assay, used to screen selected *cox1*-negative samples for the presence of cestode DNA, resulted in the

presence of *E. granulosus* s.l. DNA in all but two remaining samples, where the results is ambiguous. Despite the technical limitations of FFPE material, mitochondrial genotyping proved feasible and enabled reliable strain identification. The findings provide novel molecular data on the genotype distribution of *E. granulosus* s.l. in Bhutan and contribute to a better understanding of the regional epidemiology of cystic echinococcosis.

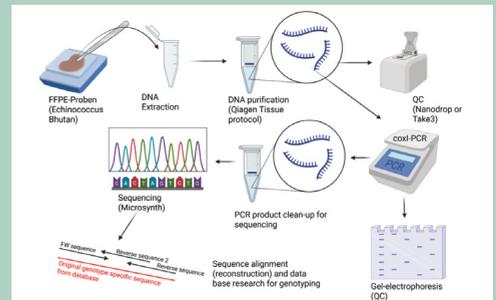


Fig. 1: Overview of the workflow for genotyping *Echinococcus granulosus* s.l. DNA from FFPE tissue.



Fig. 2: Agarose-gel (1%) of seven selected samples re-amplified by using the *Echinococcus granulosus* specific *cox1* primer pair. Sample 33 was included based on a smear band result, while samples 52, 58, 68, 70, 74 and 100 were re-amplified from previous PCRs with weak signal. All samples show clear and strong bands of the expected size (~400 bp), comparable to the positive control.

Analysis of blood cell activation in whole blood clots in response to soundwaves



Diplomandin Stefanie Kern

Korrektoren ZHAW PD Dr. René Köffel, Dr. Timothy Bergmann

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma mimiX Biotherapeutics SA durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Die Blutgerinnung ist ein komplexer und lebenswichtiger Prozess, bei dem zahlreiche Komponenten eng zusammenwirken, um Blutungen zu stoppen. In der biomedizinischen Forschung wird zunehmend untersucht, welchen Einfluss physikalische Faktoren auf die Aktivierung von Blutzellen haben können.

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde der Effekt von Schallwellen auf die Aktivierung von Leukozyten und Thrombozyten in Blutgerinnseln analysiert. Mithilfe von Immunfluoreszenzfärbung konnte ermittelt werden, ob und in welchem Ausmass sich die Zellaktivierung unter akustischem Einfluss verändert.

Die Ergebnisse liefern erste Hinweise darauf, dass Schallwellen die Aktivierung von Blutzellen beeinflussen könnten. Damit tragen sie zum besseren Verständnis mechanosensitiver Prozesse innerhalb der Hämostase bei. Zudem bilden sie die Grundlage für zukünftige Studien, die sich mit dem gezielten Einsatz akustischer Reize zur Modulation zellulärer Funktionen befassen.

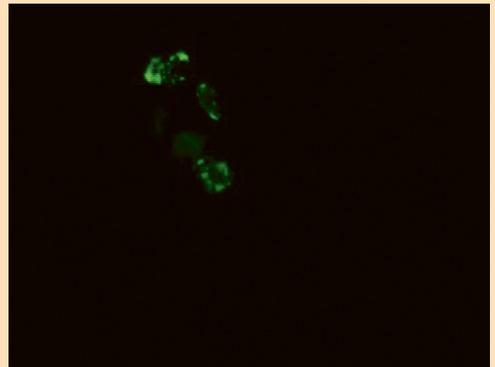


Abb. 1: Expression eines Aktivierungsfaktors auf Leukozyten nach Schallwellen Behandlung.

Antibiotikaresistenzprüfung von Starterkulturen



Diplomandin	Melanie Keusch
Korrektor ZHAW	Dr. Gottfried Dasen
Korrektor extern	BSc Christian Kunkel, Culture Collection of Switzerland AG (CCOS)

Propionibacterium freudenreichii wird vor allem als Starterkultur für die Reifung von Emmentaler eingesetzt. Eine zuverlässige Bewertung seiner Antibiotikaresistenz ist wichtig, um das Risiko einer Resistenzübertragung in der Lebensmittelkette zu minimieren. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat Grenzwerte für Propionibakterien festgelegt, die jedoch auf Daten des pathogenen *Cutibacterium acnes* basieren (früher *Propionibacterium acnes*).

Im Rahmen der Arbeit wurden die Methoden ISO 10932:2010 und CLSI M11 zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) bei *P. freudenreichii* und *C. acnes* optimiert. Der Fokus lag dabei auf der Auswahl eines geeigneten Nährmediums sowie der Anpassung der Inokulumkonzentration. Nach der Optimierung wurden 52 *P. freudenreichii*- (Agroscope Culture Collection) und vier *C. acnes*-Stämme untersucht. Für ausgewählte Stämme wurden zusätzlich Zellzahlen mittels MPN, BactoBox, CASY und Durchflusssytometrie bestimmt. Die Ergebnisse zeigen artspezifische Unterschiede. *P. freudenreichii* wies gegenüber Kanamycin erhöhte MHK-Werte auf, die in vielen Fällen über dem EFSA-Grenzwert lagen, während *C. acnes* höhere MHK-Werte bei Tetracyclin zeigte. Die CLSI M11 Methode lieferte insbesondere bei Ampicillin uneinheitliche Ergebnisse, während ISO 10932:2010

konsistentere Resultate erzielte. Die Zellzahlbestimmungen zeigten, dass die anhand der optischen Dichte (OD_{600}) geschätzten Zellkonzentrationen (KBE/ml) nicht mit den tatsächlich gemessenen Werten übereinstimmten. Die gewonnenen Erkenntnisse bilden die Basis zur neuen Bewertung der Antibiotikaresistenz bei Propionibakterien. Sie ermöglichen eine Publikation zur Diskussion einer Revision der EFSA-Grenzwerte.

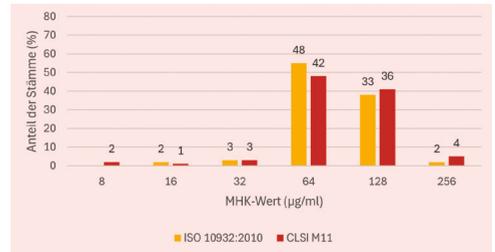


Abb. 1: Kanamycin-MHK-Verteilung bei *P. freudenreichii* (ISO 10932:2010 gelb, CLSI M11 rot). Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der Stämme an. Der EFSA-Grenzwert liegt bei 64 µg/ml.

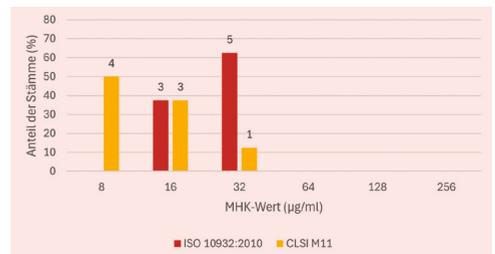


Abb. 2: Kanamycin-MHK-Verteilung bei *C. acnes* (ISO 10932:2010 gelb, CLSI M11 rot). Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der Stämme an. Der EFSA-Grenzwert liegt bei 64 µg/ml.

Multimodal Visualization and Spatial Characterization of Staphylococcal Abscess Communities



Diplomandin

Livia Shanice Kiener

Korrektor ZHAW

Dr. Ramon Eichenberger

Korrektor/-in extern

Dr. T. Fintan Moriarty, Elian Kuhn (Betreuerin)

Staphylococcal abscess communities (SAC) are bacterial aggregates surrounded by fibrin-based pseudocapsules that shield them from immune cells and some antibiotics. However, little is known about their formation and structure. This project aimed to improve visualization and spatial characterization of SAC *in vitro* and *in vivo* using a multimodal approach combining histological, molecular, and immunofluorescence (IF) techniques, including a 3D SAC model. RGB trichrome staining was optimized to enhance tissue contrast in musculoskeletal samples. Different decalcification methods were compared, with formic acid (acid-based) showing better bone visualization than EDTA for RGB staining. To examine gene expres-

sion, RNAscope *in situ* hybridization targeted genes involved in pseudocapsule formation: coagulase (Coa), staphylokinase (Sak), and rRNA. Coa signals were evenly distributed, suggesting widespread involvement in capsule formation, while rRNA signals were weak and peripheral, indicating metabolic heterogeneity and spatial differences in SAC organization. Fibrin structure was further analysed in the 3D model using fluorescent fibrinogen. While the anti-fibrin antibody lacked specificity, a dense fibrin pseudocapsule was consistently observed via fibrinogen fluorescence, colocalizing with tissue autofluorescence. In sitafloxacin-treated SAC, the fibrin matrix appeared more diffuse than in gentamicin-treated or untreated samples, possibly reflecting stress-induced changes. This study highlights the value of combining RGB staining, RNAscope, and IF for SAC analysis, contributing to a better understanding of SAC structure, heterogeneity, and antibiotic responses in *S. aureus* infections.

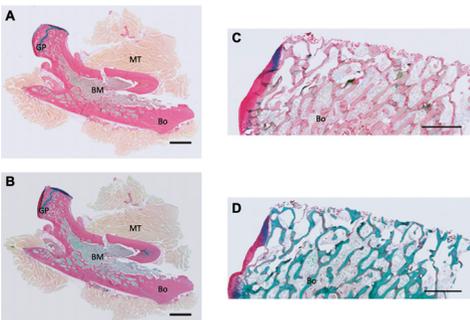


Fig. 1: RGB trichrome staining of paraffin embedded EDTA decalcified rat femur (A,C) and formic acid decalcified sheep femur (B,D) sections performed without (A,B) or with (C,D) 0.1 % acetic acid in the Fast Green staining step. Labeled tissue types: bone (Bo), bone marrow (BM), muscle tissue (MT), growth plate (GP). Scale bar: 2 mm.

Liposomal Protection Against Sepsis – Analysis of Molecular Mechanisms



Diplomand

Ramon Krieg

Korrektoren ZHAW

PD Dr. René Köffel, Dr. Timothy Bergmann

Sepsis ist eine gefährliche Komplikation, bei der das Immunsystem auf eine Infektion überreagiert. Die daraus resultierende Entzündungsreaktion kann körpereigenes Gewebe schädigen und lebensbedrohlich werden. Ein zentraler Auslöser ist ein Bestandteil der bakteriellen Zellwand, das sogenannte Lipopolysaccharid (LPS). Es aktiviert spezielle Rezeptoren auf Immunzellen und führt zur Freisetzung entzündungsfördernder Botenstoffe. Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob Liposomen die durch LPS ausgelöste Immunreaktion beeinflussen können. Liposomen werden in der Medizin bereits als Transportmittel für Wirkstoffe eingesetzt. In diesem Projekt stand ihr möglicher direkter Einfluss auf die Immunantwort im Vordergrund. In einem Zellmodell mit zwei Zelltypen wurde zunächst eine Entzündungsreaktion durch LPS ausgelöst. Anschließend wurde geprüft, ob die Zugabe von Liposomen diese Reaktion abschwächen kann. Die Aktivierung der Entzündung wurde über einen fluoreszierenden Marker (eGFP) in den Zellen gemessen (Abb.1).

Die Ergebnisse zeigten: LPS führte erwartungsgemäss zu einer starken Aktivierung. Wurden zusätzlich Liposomen gegeben, fiel diese Reaktion in bestimmten Fällen abgeschwächt aus, abhängig vom Zelltyp. Die Menge des Moleküls CD14 (Abb.2), das an der Erkennung von LPS beteiligt ist, blieb in beiden Zelltypen stabil. Diese

Ergebnisse legen nahe, dass Liposomen ein vielversprechender Ansatz sein könnten, um überschüssige Immunreaktionen, wie sie bei einer Sepsis auftreten, gezielt zu regulieren.

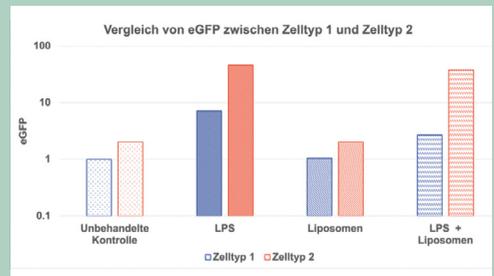


Abb. 1: Das Diagramm zeigt, dass die Reaktion auf LPS von Zelltyp 1 schwächer ausfällt, wenn zusätzlich Liposomen vorhanden sind.



Abb. 2: Struktur von einem CD14 Molekül.

Herstellung und Analyse von Sphäroid-Patches für die Wundheilung



Diplomandin

Katja Anneke Kurth

Korrektoren ZHAW

Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma mimiX Biotherapeutics durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Die zunehmende Gewichtszunahme in der Bevölkerung führt zu einem Anstieg von Stoffwechselerkrankungen wie Adipositas und Diabetes. Diese Erkrankungen können schwerwiegende gesundheitliche Folgen haben, darunter auch chronische Wunden, die die Lebensqualität der Betroffenen erheblich beeinträchtigen können. Die Firma mimiX Biotherapeutics entwickelt einen akustischen Bioprinter, welcher mittels «Sound-Induced Morphogenesis» (SIM), Partikel, Zellen und Gewebe in einer Flüssigkeit so anordnen kann, dass sich daraus ein Gewebe entwickeln kann. Die so generierten Konstrukte nennen sich «Patch». Das Produkt FastSkin® der Firma wurde entwickelt, um die Wundheilung bei Patienten zu verbessern. Dabei werden die Blutkomponenten vom Patienten durch die akustischen Wellen bewegt und in der Blutflüssigkeit angeordnet. Nach der Koagulation zu einem Patch wird dieser auf die Wunde gelegt und fördert dadurch die Wundheilung. Dieses Produkt wird momentan in klinischen Phasen getestet. Das Ziel dieser Bachelorarbeit war es, neben den Blutkomponenten, zusätzlich

noch Mikrogewebe in den Wundpatch zu integrieren, um die biologische Aktivität und Funktionalität zu verbessern. Dafür wurden Mikrogewebe aus Hautzellen hergestellt und diese in die Eigenblutmischung integriert. Diese Mischung wurde anschliessend mit akustischen Wellen mittels SIM angeordnet bevor das Blut koaguliert. Die Musterung der Mikrogewebe wurde mit verschiedenen Methoden analysiert. In Zukunft könnte dieser akustische Bioprinting Ansatz zu einer Verbesserung der Wundheilung bei schlechtheilenden Wunden führen.



Abb. 1: CymatiX Pro von mimiX Biotherapeutics: das erste akustische 3D-Druckmodul.

Validation of the New Archer VariantPlex-HGC 2.0 NGS Panel for Routine Leukemia Diagnostics Using a Next-Generation Sequencing Approach on the NovaSeq X Plus



Diplomand	Marc Landolfo
Korrektor ZHAW	PD Dr. René Köffel
Korrektor extern	Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Stefan Balabanov, Universitäts- spital Zürich

Background: Next-generation sequencing (NGS) panels are essential for detecting clinically relevant variants in hematological disorders. This study aimed to validate the newly developed USZ HAE NGS Archer VariantPlex-HGC 2.0 panel on the Illumina NovaSeq X Plus platform for routine diagnostics at the University Hospital of Zurich.

Methods: Samples, including internal quality controls, pathological, mixed, and normal patient samples, were sequenced with a minimum of 10 million paired-end reads and Q30 quality scores above 85 %. Variant detection rates were analyzed across different variant allele frequency (VAF) ranges ($>5\%$, $>1\%$, $\leq 1\%$). Manual correction and reanalysis with increased read depth (up to 50 million reads) were performed to assess detection improvements. Workflow efficiency, environmental benefits, and limitations were also evaluated.

Results: All samples met quality thresholds with Q30 scores above 85 %. The detection rate for variants with VAF $>5\%$ was 98.5 %, improving to 100 % after manual correction. For VAF $>1\%$, detection increased from 96.6 % to 97.6 % post-correction. Variants with VAF $\leq 1\%$ showed a lower detection rate (80 %), consistent with potential background noise.

Some variants (e.g., MPL p.Ser204Pro) were initially missed due to panel design exclusions. The panel design employing gene-specific PCR primer sets enables workflow automation, reduces personnel costs, and simplifies reagent management, benefiting both operations and the environment. Larger data volumes require enhanced computational resources, although overall turnaround time is reduced. Limitations include incomplete variant and gene coverage and lack of copy number variant validation.

Conclusion: The USZ HAE NGS Archer VariantPlex-HGC 2.0 panel demonstrates high-quality sequencing and reliable variant detection suitable for routine clinical use. Workflow simplification and efficiency gains support its implementation, while future primer redesign is needed to cover clinically relevant regions omitted in the current panel.

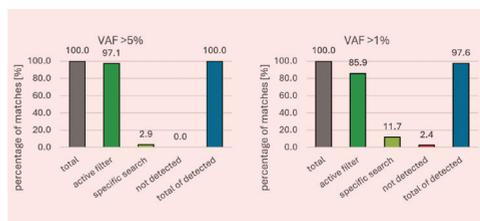


Fig. 1: Percentage of matches between expected and detected variants with a variant allele frequency $>5\%$ ($n=137$) (left) and $>1\%$ ($n=206$) (right), including manual correction of undetected variants.

Isolierung und Charakterisierung lytischer Bakteriophagen



Diplomandin	Ariane Lobsiger
Korrektor ZHAW	Dr. Ramon Eichenberger
Korrektor ZHAW	Dr. rer. nat. Hendrik Koliwer-Brandl, Institut für Medizinische Mikrobiologie, UZH, Zürich

Bakteriophagen (Phagen) sind ubiquitär vorkommende Viren, welche Bakterien infizieren. Zur Vermehrung brauchen sie einen bakteriellen Wirt, da sie nicht die Fähigkeit haben sich selbst zu replizieren. Phagen wurden erstmals zu Beginn des 20. Jahrhunderts zur Behandlung von Infektionen angewendet, dies verlor jedoch in Westeuropa, durch die Einführung von Antibiotika an Bedeutung. Die Bakteriophagentherapie rückt angesichts der aktuellen Krise durch zunehmende Antibiotikaresistenzen wieder in den Fokus. Die Methoden zur Phagenempfindlichkeitstestung unterliegen bisher keiner Standardisierung. Für eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse einer solchen Empfindlichkeitsprüfung ist es wichtig, standardisierte und reproduzierbare Ansätze einzusetzen, damit klinische Studien mit Phagen optimiert werden können.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit, bestand darin, Bakteriophagen aus Klärschlamm zu isolieren und eine anschließende Empfindlichkeitstestung gegenüber anderen Stämmen mittels Spot Assay (Abb. 1) durchzuführen. Mit den empfindlichen Stämmen wurde durch ein Wachstumskinetik-Assay beobachtet, wie sich das Wachstum der Bakterien in Anwesenheit von Phagen über 24 oder 48 Stunden verhält. Insgesamt wurden zehn Phagen isoliert – je fünf gegen *Escherichia coli* und

Pseudomonas aeruginosa. Die *E. coli* Phagen erreichten einen Titer bis 10^9 Plaque-bildende Einheiten (PBE) pro ml. Im Screening von anderen *E. coli*-Stämmen auf deren Phagenempfindlichkeit zeigte sich ein enges Wirtsspektrum. Hingegen zeigten die *P. aeruginosa* Phagen mit einem Titer von 10^6 - 10^7 PBE/ml ein breiteres Wirtsspektrum als die *E. coli* Phagen. Die Ergebnisse des Wirtsspektrum-Screenings und der Wachstumskinetik-Assays, zeigen wie täuschend Momentaufnahmen sein können. Phagen, welche im Screening Aktivität zeigten, entwickelten im Wachstumskinetik-Assay innerhalb weniger Stunden eine Resistenz.

Die Arbeit wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie der UZH in Zürich durchgeführt.

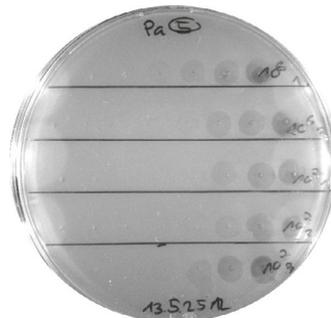


Abb. 1: Wirtsspektrum-Screening von Phage 1–5 (von oben nach unten) auf *P. aeruginosa* 5. Die Verdünnungen verlaufen von rechts nach links (10^0 bis 10^{-7}). Alle Phagen zeigen Aktivität bis zur Verdünnung 10^{-3} .

Charakterisierung unterschiedlicher Probenvorbereitungsmethoden zur Long-Read Sequenzierung in der genomischen Diagnostik (vertraulich)



Diplomandin

Laura Martinisi

Korrektoren ZHAW

Dr. med. Emanuel Zampiccoli, Dr. Michael Niklaus

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Die Long-Read-Sequenzierung (LRS) ermöglicht im Gegensatz zur Short-Read-Sequenzierung (SRS) die Analyse langer DNA-Fragmente. Während für die SRS standardisierte Protokolle zur DNA-Probenvorbereitung existieren, liegen für die Oxford Nanopore-Technologie (ONT) bislang nur wenige Richtlinien zur optimalen Probenvorbereitung vor.

In dieser Arbeit wurden drei kommerziell erhältliche DNA-Extraktionskits hinsichtlich ihrer Eignung für die LRS sowie deren Einfluss auf unterschiedliche Fragmentierungsprotokolle untersucht. Das Ziel war, auf Basis der Ergebnisse eine Entscheidungshilfe für die standardisierte und reproduzierbare Vorbereitung von DNA-Proben für ONT-Anwendungen zu entwickeln.

In der Arbeit wurden Protokolle für unterschiedliche Fragmentlängen getestet und sowohl quantitativ als auch qualitativ ausgewertet. Dabei konnten signifikante Unterschiede zwischen den Extraktionsmethoden und Fragmentierungsprotokollen nachgewiesen werden.

Die Arbeit liefert wichtige Erkenntnisse zur Optimierung der Probenvorbereitung für die LRS in der molekulargenetischen Diagnostik.

Untersuchung umweltfreundlicher Färbelösungen für die May-Grünwald-Giemsa-Färbung auf den DxH900 SMS



Diplomandin	Oliwia Mitoraj-Sliwa
Korrektorin ZHAW	Dr. Adisa Trnjanin
Korrektorin extern	Antoinette Monn

Die mikroskopische Beurteilung von Blutausstrichen bleibt trotz automatisierter Analysensysteme in bestimmten Fällen unverzichtbar. Für diese Bewertung wird am Stadtspital Zürich Triemli die May-Grünwald-Giemsa-Färbung (MGG) eingesetzt. Die klassische Methode basiert auf methanolhaltigen Reagenzien, die als gesundheitlich bedenklich gelten und aufwändig entsorgt werden müssen. Ziel dieser Bachelorarbeit war es, JetDye-AF-Reagenzien als alkoholfreie und umweltfreundlichere Alternative zur etablierten SOP-Färbung zu untersuchen. Der Schwerpunkt lag auf der manuellen Durchführung verschiedener JetDye-AF-Protokolle in drei Batches. In Batch 1 wurde die Färbequalität an gesunden Ausstrichen geprüft. Batch 2 diente der Optimierung mithilfe modifizierter Puffer. In Batch 3 wurden pathologische Ausstriche verwendet, um die Aussagekraft der Protokolle unter realen Bedingungen zu bewerten. Zusätzlich wurden automatisierte Färbungen mit dem ColorJet Nano (JetDye-AF) durchgeführt und mit dem SOP-Protokoll auf dem DxH900 SMS verglichen. Die Anwendung von JetDye-AF am DxH900 SMS war aus technischen Gründen nicht möglich. Die besten Ergebnisse erzielte das Iconic V-A-Protokoll, das eine gute Darstellung zellulärer Strukturen ermöglichte, jedoch eine geringere Färbeintensität als das Referenzprotokoll zeigte. Eine semi-quantitative Grauwertanalyse be-

stätigte signifikante Unterschiede, entsprach aber nicht in allen Fällen der subjektiven mikroskopischen Beurteilung. Die JetDye-AF-Reagenzien zeigten Vorteile bei Arbeitssicherheit, Handhabung und Umweltverträglichkeit. Für eine mögliche Integration in die Routinediagnostik sind jedoch weitere Validierungen notwendig.

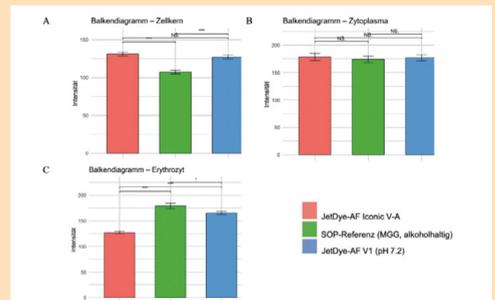


Abb. 1: Vergleich der mittleren Grauwertintensitäten in Zellkern (A), Zytoplasma (B) und Erythrozyten (C) nach Färbung mit JetDye-AF Iconic V-A, JetDye-AF V1 (pH 7.2) und dem SOP-Referenzprotokoll (MGG, alkoholhaltig). Die Balken zeigen Mittelwerte mit Standardabweichung (n = 10). Signifikanzniveau: *p < 0.05; ***p < 0.001; NS = nicht signifikant.

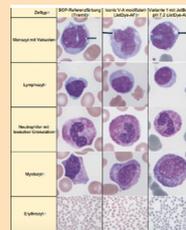


Abb. 2: Vergleich der zytomorphologischen Darstellung ausgewählter Blutzelltypen nach manueller Färbung mit dem SOP-Referenzprotokoll (alkoholhaltig, Stadtspital Triemli), JetDye-AF Iconic V-A sowie JetDye-AF Variante 1 mit JetBuffer pH 7.2. Gezeigt werden typische Beispiele für Monozyten, Lymphozyten, neutrophile

Granulozyten mit toxischer Granulation, Myelozyten und Erythrozyten. Unterschiede in Farbintensität, Granulationsdarstellung und Zellkernausprägung sind zwischen den Protokollen sichtbar.

Analysis of Factors Influencing Cardiac Troponin Levels in Blood



Diplomand Raphael Müller

Korrektor/-in ZHAW Dr. Georg Spinner, Dr. sc. nat. Adisa Trnjanin

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem Universitätsspital Basel durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Methodenentwicklung Quecksilber mit ICP-MS/MS



Diplomandin	Meret Niklaus
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Sandro Manni
Korrektor extern	Dr. phil. nat. Manuel Gnägi-Lux, Medics Labor AG

Die zuverlässige Bestimmung von Quecksilber ist von hoher medizinischer und toxikologischer Relevanz. Vor allem Methylquecksilber gilt als stark gesundheitsschädigend und kann zahlreiche Organsysteme beeinträchtigen. Die Hauptaufnahme erfolgt über den Verzehr von Fisch und Meeresfrüchten. Eine präzise Analyse ist daher zentral für das Human-Biomonitoring, die klinische Diagnostik und die Umweltmedizin.

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Optimierung einer Methode zur Bestimmung der Quecksilberkonzentration in biologischen Proben mittels ICP-MS/MS. Aufgrund analytischer Herausforderungen, wie der Instabilität in Lösungen, Adsorption an Gefässen und dem Mercury Memory Effekt, lag der Fokus auf der Probenvorbereitung und Stabilisierung.

Zunächst wurde die Stabilität von Kalibrationslösungen untersucht. Diese zeigten

bereits nach wenigen Tagen signifikante Konzentrationsverluste, was eine frische Herstellung vor jeder Messung notwendig macht. Der Mercury Memory Effekt war nachweisbar und konnte trotz Zugabe einer Gold(III)-Lösung nicht vollständig beseitigt werden.

Weitere Schwerpunkte waren die Untersuchung der Robustheit von Verdünnungslösungen, sowie die Bestimmung von Nachweis- (LoD) und Bestimmungsgrenze (LoQ). Vergleichsmessungen mit etablierten Methoden und Ringversuche bestätigten die Eignung der entwickelten Methode, zeigten jedoch Optimierungspotenzial bei hohen Konzentrationen. Die obere Bestimmungsgrenze (ULOQ) konnte nicht abschliessend definiert werden.

Zusätzlich wurde die Stabilität von Proben bei Raumtemperatur und im Kühlschrank untersucht. Nach neun Tagen zeigten sich mittlere Konzentrationsverluste von 22.53 % (RT) bzw. 20.75 % (KS).

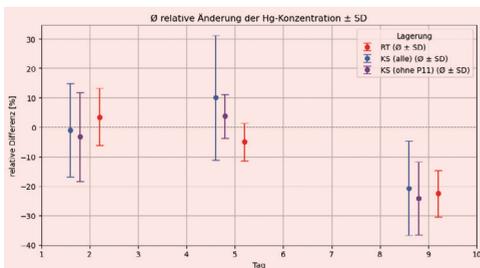


Abb. 1: \bar{x} relative Änderung der Hg-Konzentration \pm SD, eigene Darstellung (2025).

Die entwickelte Methode stellt einen wichtigen Beitrag zur zuverlässigen Quecksilberbestimmung in Humanproben dar und bildet die Basis für zukünftige Anwendungen in Diagnostik und Biomonitoring.

Automatisierte morphologische Analyse von Erythrozyten und Anämie-Klassifikation



Diplomandin Nadine Ottiger

Korrektor/-in ZHAW Dr. Adisa Trnjanin, Dr. med. Vet. Julia Traversari,
Prof. Dr. Sven Hirsch

Anämie gehört weltweit zu den häufigsten gesundheitlichen Problemen. Besonders gefährdet sind Kinder, schwangere Frauen und Personen mit chronischen Erkrankungen. Für die Diagnose ist die genaue Betrachtung der roten Blutzellen im Blutausstrich nach wie vor ein zentraler Bestandteil. Diese Untersuchung erfolgt traditionell manuell unter dem Mikroskop und verlangt viel Erfahrung, Konzentration und Zeit. Zudem ist sie anfällig für subjektive Einschätzungen. Ziel meiner Arbeit war es herauszufinden, ob künstliche Intelligenz dazu eingesetzt werden kann, diesen Schritt automatisiert, schneller und objektiver durchzuführen.

Hierfür wurden Bilddaten von mehreren tausend roten Blutzellen analysiert. Die Zellen stammten aus verschiedenen Blutbildern, darunter Aufnahmen mit bekannten Fällen von Eisenmangel oder Vitamin-B12-Mangel sowie normale Blutbilder. Mit einer Bildverarbeitungssoftware wurden Zellform, Farbe, Grösse und Helligkeit gemessen und statistisch ausgewertet. Auf dieser Basis entstanden Klassifikationsmodelle, welche neue Zellbilder automatisch beurteilen konnten.

Die Resultate zeigen, dass häufig vorkommende Zellformen mit hoher Genauigkeit erkannt wurden. Bei unterrepräsentierten Formen blieb die Leistung jedoch eingeschränkt. Besonders anspruchsvoll war

die Unterscheidung von ähnlichen Zelltypen wie makrozytären und megalozytären Zellen.

Insgesamt zeigt die Arbeit, dass künstliche Intelligenz bereits eine wertvolle Hilfe für die Diagnostik sein kann. Damit eine breite Anwendung möglich wird, braucht es jedoch noch mehr qualitativ hochwertige Bilddaten, klare Referenzstandards und transparente Entscheidungsgrundlagen.

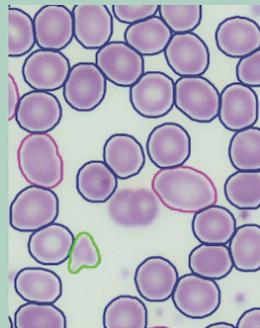


Abb. 1: Automatisierte Erythrozyten Klassifikation (blau = normozytär, pink = megalozytär, grün = mikrozytär).

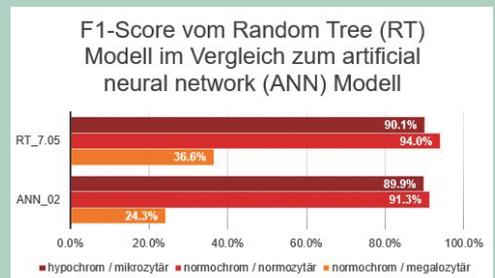


Abb. 2: F1-Score vom Random Tree Modell im Vergleich zum artificial neural network Modell aufgegliedert nach Erythrozyten Morphologie.

Taxonomic description of *Kluyvera parageorgiana* sp. nov., a novel species within the genus *Kluyvera*



Diplomandin

Annina Portmann

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Theo Smits, Dr. Fabio Rezzonico

Members of the genus *Kluyvera* spp. are mostly environmental bacteria in the family Enterobacteriaceae that increasingly cause opportunistic infections and are recognized as precursor of plasmid-borne ESBL genes. In this study we describe strain 9062RM^T, recovered from a tracheal aspirate of a patient with ventilator-associated-pneumonia in Porto Alegre, Brazil. Both 16S rRNA gene sequencing and MALDI-TOF-MS identified the isolate within the genus *Kluyvera*.

Whole genome sequencing of strain 9062RM^T produced a 5.289 Mbp draft genome containing a circular chromosome of 5.009 Mbp (55.39 % G + C) and ten plasmids (2.9–103 kbp). A 2'125-gene core alignment of 54 *Kluyvera*, *Klebsiella*, *Raoultella*, *Pseudocitrobacter* and *Pluralibacter* genomes generated a core genome tree that formed a well-supported clade of strain 9062RM^T with eight related genomes clearly delimiting from all five validly published *Kluyvera* species.

The overall genome relatedness indices (ANI >98.97 %; digital DDH >76.5 %) within the clade confirmed the separation of the new clade at the species level from the other validly published *Kluyvera* species.

Pan-genome analysis revealed the gain of two chromosomal gene clusters in the new *Kluyvera* species encoding for a putrescine-degradation pathway and a complete TRAP system.

CARD, ResFinder and the beta-lactamase database detected a chromosomal *bla*_{CTX-M-13} gene and a plasmid-bound *bla*_{KPC-2} gene co-localized with a complete *mer* operon on an IncP-6 plasmid, underlining the heavy-metal co-selection of carbapenem resistance.

The results support the proposal of a novel species, for which the name *Kluyvera parageorgiana* sp. nov. is proposed, with strain 9062RM^T (=CCOS 2087) as the type strain.

Vergleich der Urinflowzytometrie UF-1500 von Sysmex mit der Referenzmethode Urinkultur – Eine Evaluierung diagnostischer Übereinstimmung



Diplomandin	Shawmiya Ratnasabapathy
Korrektor ZHAW	Dr. Ramon Eichenberger
Korrektor extern	Dr. med. Josua Maurer, MCL

Harnwegsinfektionen (HWI) gehören zu den häufigsten bakteriellen Infektionen in der medizinischen Versorgung. Die klassische Urinkultur gilt als Goldstandard, ist jedoch zeitaufwändig. Ziel dieser Arbeit war es, die diagnostische Leistungsfähigkeit des UF-1500 im Vergleich zur klassischen Urinkultur zu evaluieren und dessen Potenzial als Screening-Instrument in der Routinediagnostik zu untersuchen. Für die Studie wurden 601 Urinproben mit Borsäure unter praxisnahen Laborbedingungen parallel mittels Urinflowzytometrie (Sysmex UF-1500) und klassischer Urinkultur analysiert. Die gemessenen Parameter, insbesondere Bakterien und Leukozytenzahl, wurden mittels ROC-Analyse hinsichtlich ihrer Sensitivität, Spezifität und prädiktiven Werte bei unterschiedlichen Cut-off-Werten ausgewertet. Die Ergebnisse zeigten, dass der UF-1500 insbesondere bei starkem bakteriellem Wachstum ($\geq 10^5$ – 10^6 KBE/ml) eine hohe Trennschärfe besitzt (AUC 0.904), während auch für relevantes Wachstum (10^3 – 10^6 KBE/ml) eine gute Übereinstimmung nachgewiesen werden konnte (AUC 0.827). Die Analyse verschiedener Cut-Off-Werte zeigt den klassischen Trade-off zwischen Sensitivität und Spezifität. Niedrige Cut-offs ermöglichen eine sehr hohe Sensitivität und damit ein nahezu vollständiges Erkennen von Infektionen (NPV nahe 100 %), führen jedoch zu vielen falsch-positiven Resultaten (niedriger PPV). Höhere Cut-Offs steigern die Spezifität deutlich, gehen jedoch mit einem Sensitivitätsverlust einher. Ein Cut-off von etwa 500–1000 Bakterien/µL wurde als pragmatischer Kompromiss identifiziert, um eine ausgewogene Detektionsleistung zu erzielen. Die Leukozytenzahl zeigte ähnliche Muster. Hohe Sensitivität und NPV bei niedrigen Cut-Offs, jedoch niedrige Spezifität und PPV. Höhere Cut-Offs verbessern die Spezifität, mindern aber die Fähigkeit, Infektionen sicher auszuschließen. Insgesamt bietet der Sysmex UF-1500 eine effiziente und zuverlässige Möglichkeit zur Optimierung der Urindiagnostik.

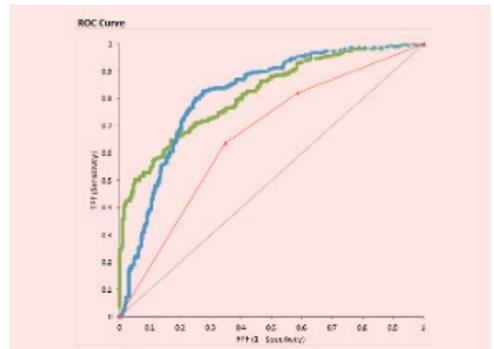


Abb. 1: ROC-Kurven für die diagnostische Leistungsfähigkeit der Bakterienzahl (Bact 1, grün), flowzytometrischer Leukozytenzahl (LC, blau) und Urinstreifen-Leukozytenwert (Urinstreifen LC, rot) zur Vorhersage eines Nachweises von 10^3 – 10^6 KBE/ml. Auf der X-Achse ist die False Positive Rate (1–Spezifität) dargestellt, die Y-Achse zeigt die True Positive Rate (Sensitivität). Die AUC-Werte betragen 0,818 (Bact 1), 0,816 (LC) und 0,661 (Urinstreifen LC).

Lektine in der histologischen Identifizierung von pflanzlichen Polysacchariden auf Schleimhäuten



Diplomandin Ajshe Redjepi

Korrektor/-in ZHAW Dr. Evelyn, Wolfram, Dr. Michael Raghunath, Britta Strigl

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit einer externen Firma durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Analyse von humanen peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) aus Patienten nach *Echinococcus multilocularis* (Fuchsbandwurm) Infektion



Diplomandin

Fabienne Schättin

Korrektoren ZHAW

PD Dr. René Köffel, Dr. Philipp Kronenberg

Die alveoläre Echinokokkose (AE) ist eine durch das Larvenstadium von *Echinococcus multilocularis* verursachte Zoonose und zählt laut WHO zu den 17 vernachlässigten Krankheiten, die bis 2050 kontrolliert oder eliminiert werden sollen. Ihr infiltratives, tumorähnliches Wachstum verläuft unbehandelt meist tödlich. Da etablierte Diagnoseverfahren – serologisch, molekularbiologisch und bildgebend – nur begrenzte Aussagekraft besitzen und AE-Läsionen lange asymptomatisch bleiben können, besteht dringender Bedarf an frühzeitig einsetzbaren und präziseren diagnostischen Methoden. Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde ein immunologisches Analyseprotokoll zur Charakterisierung humaner PBMCs nach einer *E. multilocularis*-Infektion entwickelt. Zwei

monoklonale Antikörper, mAbEm18 (Testantikörper) und mAbEm2G11 (Kontrollantikörper), wurden erfolgreich mit Alexa Fluor® 488 markiert. Ihre Funktionalität wurde mithilfe der Methoden ELISA, Western Blot, Immunfluoreszenz und Durchflusszytometrie (FACS) überprüft. Immunfluoreszenzmikroskopische Aufnahmen gesunder PBMCs (Abb. 1) zeigten ein deutliches Signal beim Testantikörper, während der Kontrollantikörper keine spezifische Bindung erkennen liess. Die anschliessende FACS-Analyse an gesunden PBMCs (Abb. 2) bestätigte diese Beobachtung. Die vorliegenden Daten sprechen für eine spezifische Bindung von mAbEm18 an Zielstrukturen in PBMCs gesunder Individuen und unterstreichen das diagnostische Potenzial des Antikörpers. Um die Aussagekraft der bisherigen Befunde zu stärken, ist die weiterführende Untersuchung infizierter Proben unter standardisierten Bedingungen erforderlich.

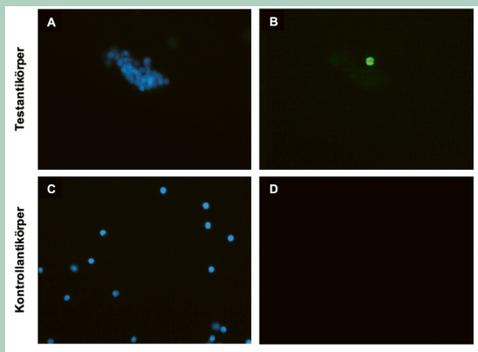


Abb. 1: Im Vergleich zur Kontrollfärbung (C, D) zeigt die Immunfluoreszenzfärbung mit dem Testantikörper (A, B) bei PBMCs gesunder Spender:innen ein deutlich spezifischeres Signal.

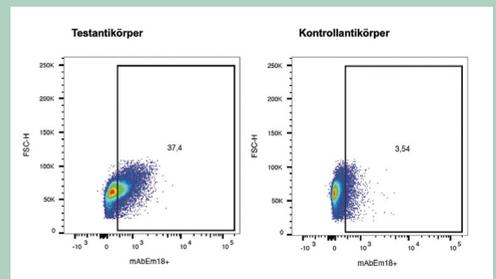


Abb. 2: FACS-Analyse eines repräsentativen Donors (von fünf getesteten): Der Testantikörper weist ein deutlich stärkeres Fluoreszenzsignal auf als der Kontrollantikörper.

Optimierung eines durchflusszytometrischen Verfahrens zur alternativen Diagnostik intestinaler Parasiteninfektionen in humanen Fäzesproben



Diplomandin

Martina Schluchter

Korrektoren ZHAW

Dr. Cedric Schirmer, M.Sc. Alexander Hämmerli

Darmparasiten sind ein weitverbreitetes, jedoch oft tabuisiertes Thema. Weltweit sind Millionen von Menschen betroffen. Derzeit erfolgt der Nachweis von Parasiteneiern wie *Enterobius vermicularis* oder *Diphyllobothrium latum* noch manuell durch die mikroskopische Analyse von Stuhlproben – ein zeitaufwändiger und fehleranfälliger Prozess.

Im Rahmen meiner Bachelorarbeit wurde untersucht, ob dieser Nachweis durch moderne Technologien automatisiert werden kann – konkret durch den Einsatz der Durchflusszytometrie (Flow Cytometry, FCM). Mit dieser Methode lassen sich innerhalb kürzester Zeit Tausende Partikel analysieren. Dabei durchqueren die Partikel einzeln einen Laserstrahl, wobei Streuung und Autofluoreszenz des Lichts gemessen werden. Diese Signale ermöglichen Rückschlüsse auf Grösse, Form und Struktur der Partikel.

Ein wichtiger Analyseparameter ist die sogenannte Pulsform (Pulse Shape), die den zeitlichen Verlauf des Lichtsignals beschreibt, während ein Partikel den Laserstrahl durchquert. Diese Signalform liefert charakteristische Informationen, die eine Unterscheidung zwischen Parasiteneiern und gewöhnlichen Stuhlpartikeln ermöglichen.

Da Stuhlproben biologisch sehr heterogen sind, wurde untersucht, unter welchen Bedingungen das Durchflusszytometer zuver-

lässige Resultate in Bezug auf die Partikelkonzentration liefert. Verschiedene Messvolumina und Konzentrationen wurden getestet, um deren Einfluss auf Reproduzierbarkeit und Messgenauigkeit zu bewerten.

Zusätzlich wurden mit dem Gerät aufgenommene Bilder ausgewertet und Parasiteneier identifiziert. Die zugehörigen Pulsformen wurden mit denen normaler Stuhlpartikel verglichen. Die gewonnenen Daten sollen künftig zur Entwicklung von Algorithmen beitragen, um eine automatisierte, objektive und schnellere Diagnostik parasitärer Infektionen zu ermöglichen.

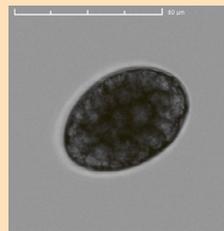


Abb. 1: FCM-Aufnahme eines *Diphyllobothrium latum* Parasiteneis mit Massstab (80 µm).

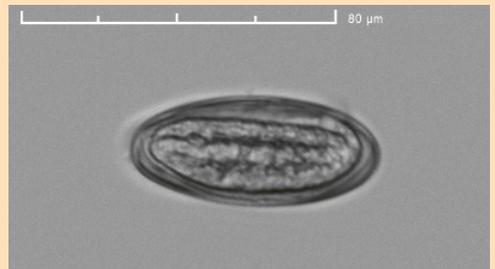


Abb. 2: FCM-Aufnahme eines *Enterobius vermicularis* Parasiteneis mit Massstab (80 µm).

Einfluss von Macromolecular Crowding auf die extrazelluläre Matrixdeposition von Astrozyten: Vergleich zwischen Standard- und hypoxischen Bedingungen



Diplomandin

Kathrin Schneider

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Michael Raghunath, BSWc Britta Striegl

Narbenbildung im Zentralnervensystem (ZNS) gilt als zentrales Hindernis für die Regeneration nach Rückenmarksverletzungen. Ziel dieser Arbeit war es, ein schnelles und kosteneffizientes in-vitro-Fibrosemmodell zu etablieren, das die frühen Matrixprozesse der Glianarbenbildung realitätsnah abbildet. Hierzu wurden humane U87-MG- und SNB-19-Astrozyten, primäre Rattenastrozyten und NHDF-Fibroblasten unter Makromolekular Crowding (MMC) (18 % (v/v) Ficoll 70/400) sowie unter kontrollierter Hypoxie (1 % O₂) kultiviert. Die extrazelluläre Matrix (ECM) wurde mittels Immunfluoreszenz für Kollagen I und IV nachgewiesen; die Aktivierung hypoxischer Signalwege erfolgte über den Nachweis HIF-1 α -Akkumulation im Zellkern.

MMC steigerte die Kollagen-I-Ablagerung signifikant in Astrozyten und Fibroblasten, mit besonders ausgeprägtem Effekt in Fibroblasten. Kollagen IV zeigte erst ein verstärktes Signal, konnte jedoch mangels nicht funktionierender Positivkontrollen nicht eindeutig bestätigt werden. Die Kombination aus MMC und Hypoxie verstärkte das Kollagen-I-Signal zusätzlich. Fünf Tage Sauerstoffreduktion bewirkten eine deutliche HIF-1 α -Stabilisierung in Astrozyten, nicht jedoch in Fibroblasten, was auf zelltypspezifische Stressreaktionen hinweist.

Durch den Vergleich mehrerer Fixations- und Inkubationsprotokolle konnten reproduzierbare Färbeergebnisse erzielt werden. Optimierungspotenziale bestehen bei der Antigenzugänglichkeit von Kollagen IV, der zeitlichen Beeinflussbarkeit der HIF-1 α -Stabilisierung sowie der Einbindung weiterer Zelllinien und 3D-Kulturansätze, um die in-vivo-Relevanz weiter zu erhöhen.

Das entwickelte Versuchsmodell bietet eine verlässliche Basis, um neue Therapien gegen Narbenbildung nach Rückenmarksverletzungen künftig schneller und gezielter zu bewerten.

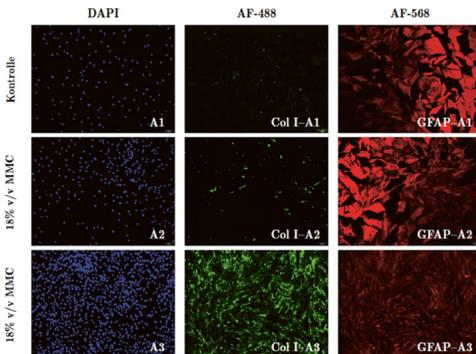


Abb. 1: Immunfluoreszenz mit Col I- und GFAP-Antikörpern. A1 und A2: primäre Rattenastrozyten, A3: NHDF (Fibroblasten). A1 wuchs unter Standardbedingungen. A2 und A3 wuchsen im MMC-Medium unter Hypoxie.

Optimierung der Filtration im Rahmen des Downstream-Prozesses bei der Expression von therapeutischen Proteinen mittels *Saccharomyces cerevisiae*



Diplomandin

Nadja Schönenberger

Korrektor ZHAW

Dr. Jürgen Ebert

Korrektor extern

Dr. Christoph Jansen, Metrohm Schweiz AG

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Filtrix AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

In dieser Bachelorarbeit wurde die Filtration von *Saccharomyces cerevisiae* mittels Tiefenfiltration optimiert.

In die Bachelorarbeit wurde die Filtration von *Saccharomyces cerevisiae* mittels Tiefenfiltern optimiert. Verschiedene Kombinationen von Filterschichten und Filterhilfsmitteln wurden hinsichtlich

Filtrationsvolumen, Druckverlauf und Trübungsreduktion untersucht. Zusätzlich wurde das Rückhaltevermögen der Filter für DNA und Proteine bewertet.

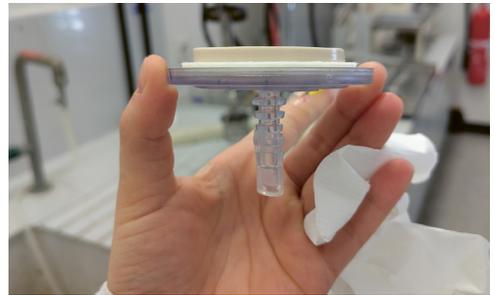


Abb. 2: Filterkuchen nach einem Filtrationsprozess.

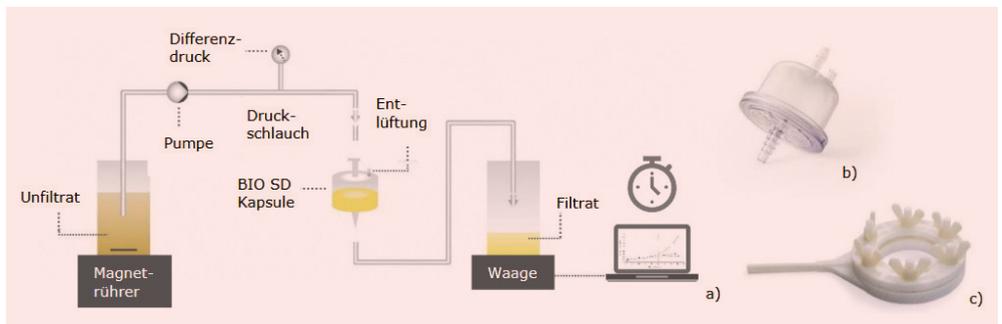


Abb. 1: Aufbau eines Filtrationsversuchs.

Herstellung rekombinanter «Tailocine» für die spezifische Kontrolle von *Pseudomonas aeruginosa*



Diplomandin

Sabrina Sequeira Dias

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Lars Fieseler, Dr. Marjan Veljkovic

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der ZHAW durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Pseudomonas aeruginosa ist ein bedeutender multiresistenter, opportunistischer Krankheitserreger, der insbesondere bei immungeschwächten Patienten akute und chronische Infektionen verursacht und zu den häufigsten Erregern nosokomialer Infektionen zählt. Aufgrund zunehmender Resistenzen gegenüber herkömmlichen Antibiotika stellt *P. aeruginosa* ein zentrales Problem im Gesundheitswesen dar, sodass alternative Ansätze wie Bakteriophagen und Pyocine in den Fokus rücken. Bakteriophagen (Phagen) sind Viren, die Bakterien spezifisch infizieren und sich innerhalb dieser replizieren, was zur Lyse führt. Sie besitzen einen ikosaedrischen Kopf, der die DNA enthält und einen Schwanz, der für die Bindung an die Wirtszelle und die Injektion der DNA verantwortlich ist. Pyocine sind Tailocine, die von *P. aeruginosa* produziert werden. Sie ähneln strukturell den Phagenschwänzen, besitzen jedoch keinen Kopf mit DNA und töten die Zielbakterien durch Porenbildung in der Membran, was zum Absterben der Zelle führt. Im Rahmen meiner Bachelorarbeit war es das Ziel, Pyocine rekombinant herzustellen, die gezielt

gegen die Wirtsstämme des LMA2-Phagen von *P. aeruginosa* gerichtet sind. Für die Herstellung der Pyocine wurden zwei Expressionsvektoren generiert, die aus einem Adapterteil, dem N-Terminus des R2-Typ Pyocin Fibers sowie dem Rezeptorbindeprotein des LMA2-Phagen bestehen.

Das Wirtsspektrum des LMA2-Phagen und seine Adsorption an der Bakterienoberfläche wurden an verschiedenen *P. aeruginosa*-Stämmen getestet. Nach erfolgreicher Produktion der Pyocine wurde deren Aktivitätsspektrum bestimmt, um ihre Wirksamkeit zu prüfen. Die generierten Pyocine weisen ein Aktivitätsspektrum auf, das teilweise dem Wirtsspektrum des LMA2-Phagen entspricht, und zeigen im Gegensatz zu nativen Pyocine Aktivität gegenüber *P. aeruginosa* PAO1 Wildtyp, was auf eine erfolgreiche Umprogrammierung hinweist.

Gattung	Spezies	Stamm	Wirtsspektrum
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PAO1 Δ wagh	+++
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PAO1 Krylov	+++
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PT42	+++
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	C	+
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	MPA01	+++
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PT40	+
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	Aa245	-
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	GHB 15	+++
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PT39	-
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	MW1	-
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PAO1 Δ algC	-
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PAO1 Δ wapR	+
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PAO1 Wildtyp	+++
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	PAO1 Δ PRF15	+++

Abb. 1: Wirtsspektrum LMA2-Phage (repräsentative Resultate): «-» = keine Lyse; «+» = Lyse bis 10^{-6} ; «++» = Lyse bis 10^{-7} ; «+++» = Lyse in allen Verdünnungen.

Entwicklung der Analyse eines Detektionssystem zum Nachweis von porenbildenden Proteinen



Diplomandin

Rinesa Shabija

Korrektor/-in ZHAW

Dr. Andrea Baier, PD Dr. René Köffel

Streptococcus pneumoniae ist ein relevantes humanpathogenes Bakterium. Ein zentraler Virulenzfaktor von *Streptococcus pneumoniae* ist das Pneumolysin (PLY). PLY zählt zur Familie der cholesterinabhängigen Zytolysine (CDCs), einer umfangreichen Proteingruppe, die an cholesterinreiche Membranen bindet und dabei ringförmige Poren bildet. Der Nachweis porenbildender Proteine wird konventionell über einen Hämolyse-Assay durchgeführt. Angesichts der hohen Sicherheitsanforderungen und Kosten beim Umgang mit Erythrozyten besteht ein Bedarf an alternativen Testsystemen. Ein kostengünstiges Detektionssystem mit in Liposomen eingeschlossenen Fluorochromen ermöglicht den Nachweis porenbildender Proteine ohne strenge Sicherheitsanforderungen. Daher war das Ziel dieser Bachelorarbeit die Entwicklung eines Detektionssystems zum Nachweis porenbildender Proteine. Zu diesem Zweck wurden das Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) sowie Natriumfluorescein eingesetzt, um deren konzentrationsabhängige Freisetzung aus Liposomen nachweisen zu können. Zunächst wurden die analytischen Parameter beider Fluorochrome optimiert, wobei der Fokus auf dem Konzentrationsbereich lag, in dem die Fluoreszenzintensität linear konzentrationsabhängig ist. Anschliessend erfolgte die Formulierung in Liposomen. Für EGFP konnte unter den gewählten Bedingungen kein linearer Zusammenhang zwischen Konzen-

tration und Fluoreszenzintensität festgestellt werden. Als mögliche Ursache kommt ein Quenching-Mechanismus in Betracht. Da die Verkapselung von EGFP in Liposomen nicht bestätigt werden konnte, zeigte EGFP unter den eingesetzten methodischen Bedingungen keine Eignung für das Detektionssystem. Natriumfluorescein wies hingegen einen zuverlässigen linearen Messbereich auf (siehe Abbildung 1). Bei den Test-Liposomen handelt es sich wahrscheinlich überwiegend um multilamelläre Vesikel, da die Lipidfilm-Hydratation als Herstellungsverfahren eingesetzt wurde. Zusammengefasst zeigt Natriumfluorescein Potenzial als in Liposomen verkapseltes Detektionssystem zum Nachweis porenbildender Proteine, insbesondere aufgrund seiner geringen Toxizität und niedrigen Kosten.

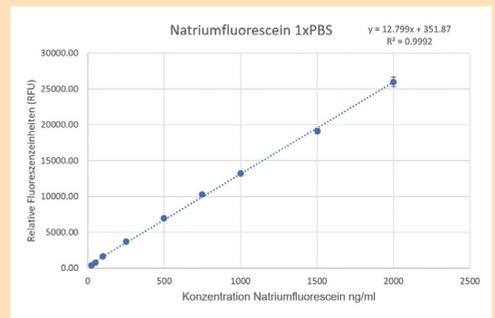


Abb. 1: Standardkurve von Natriumfluorescein in 1x PBS (25–2000 ng/ml) mit linearer Regressionsgerade ($R^2 = 0,9992$) Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung (SD) der Dreifachbestimmungen ($N = 3$). (eigene Darstellung).

Analyse des Darmmikrobioms von Hunden: Evaluierung von DNA-Extraktionsmethoden und Sequenzierungstechnologien



Diplomandin	Araneya Sivanantharajah
Korrektor ZHAW	Dr. med. Emanuel Zampiccoli
Korrektorin extern	Dr. Fabronia Murad, Genuine-Analytics AG

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Genuine-Analytics AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Nachweis viraler RNA im ZNS nach Coronavirus-Infektion



Diplomandin	Elmedina Skenderovic
Korrektor ZHAW	PD Dr. René Köffel
Korrektorin extern	Prof. Dr. Natalia Pikor, Medizinisches Forschungszentrum St. Gallen

Der langanhaltende Nachweis viraler RNA nach akuter Infektion hat insbesondere im Zusammenhang mit SARS-CoV-2 an Bedeutung gewonnen. Virale RNA kann noch Wochen nach Symptombeginn in Geweben gefunden werden. Dies gilt nicht als Beleg für vermehrungsfähige Viren, wird aber als Hinweis auf kürzlich stattgefundenere oder anhaltende virale Aktivität gewertet. Während entsprechende Verläufe bei immunsupprimierten Wirten dokumentiert sind, ist über persistierende Infektionen in immunkompetenten Wirten bislang wenig bekannt.

Diese Bachelorarbeit untersuchte, ob virale Transkripte auch im zentralen Nervensystem immunkompetenter Mäuse über einen längeren Zeitraum nachweisbar bleiben. Das neurotrope Coronavirus MHV-A59 diente als Modellorganismus für SARS-CoV-2. Ziel war es, die Dynamik viraler RNA im Gehirn über 60 Tage zu analysieren und zwischen aktiver Replikation und RNA-Persistenz zu unterscheiden.

Ein zentraler Bestandteil war das Design spezifischer Primer für die viralen Zielgene N, S und ORF1ab, um eine verlässliche Detektion viraler Transkripte zu ermöglichen. C57BL/6-Mäuse wurden intranasal infiziert und die olfaktorischen Hirnareale zu definierten Zeitpunkten entnommen. Nach RNA-Isolierung und reverser Transkription erfolgte die quantitative Analyse

mittels real-time PCR. Zusätzlich wurde ein Plaque-Assay durchgeführt, um infektiöse Viruspartikel nachzuweisen.

Die Ergebnisse zeigen, dass replikationsfähiges Virus im Plaque Assay nur bis Tag 10 nachweisbar war, während virale RNA mittels qPCR bis Tag 60 detektiert werden konnte. Besonders niedrige Ct-Werte an Tag 10 deuten auf eine hohe Transkriptmenge in der späten akuten Phase hin, gefolgt von einem allmählichen Anstieg der Ct-Werte.

Die Befunde sprechen für eine RNA-basierte Persistenz ohne aktive Virusreplikation im ZNS und liefern neue Impulse für das Verständnis möglicher postviraler Spätfolgen wie Long COVID.

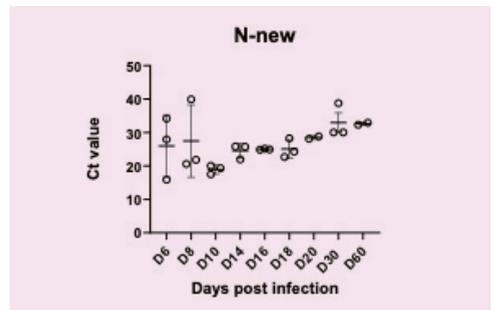


Abb. 1: Ct-Werte des viralen Zielgens N-new im olfaktorischen Bulbus infizierter Mäuse zu verschiedenen Zeitpunkten (D6-D60) nach intranasaler MHV-A59-Infektion.

Analysis of sound induced patterning of blood cells in whole blood clots



Diplomandin

Salome Straumann

Korrektoren ZHAW

PD Dr. René Köffel, Dr. Timothy Bergmann

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma mimiX Biotherapeutics durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Die Wundheilung ist ein komplexer Prozess, bei dem Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Zelltypen und Botenstoffen eine wichtige Rolle spielen. Eine mangelnde Versorgung des betroffenen Gewebes kann zu chronischen Wunden führen und die normale Funktion der Haut beeinträchtigen. Bevölkerungsgruppen mit Risikofaktoren für die Entstehung von chronischen Wunden werden in den nächsten 10 Jahren voraussichtlich stark zunehmen, was den Bedarf an verbesserten Behandlungsmög-

lichkeiten verdeutlicht. Für die physiologische Gewebefunktion und die Morphogenese ist die Zellorganisation von grundlegender Bedeutung. Deswegen hat sich die Forschung stark auf die Entwicklung von In-vitro-Systemen konzentriert, die die komplexe Gewebeorganisation getreu nachbilden können. Es gibt bereits viele Studien, die Endothelzellen verwenden und vaskuläre Strukturen in Hydrogellen nachbilden konnten. Die SIM-Technologie ermöglicht durch die akustische Musterung die Bildung von vaskulären Netzwerken ausgehend von niedrigen Zellzahlen. Dies könnte für die Zelltherapie und das Tissue Engineering von grosser Bedeutung sein, da insbesondere bei der Zelltherapie der Mangel an körpereigenen Zellen einen der grössten Engpässe darstellt. Der Einsatz der SIM-Technologie eröffnet somit neue Perspektiven für die Bildung von multizellulären Strukturen und zukünftigen klinischen Anwendungen. Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde der Einfluss von Schallwellen auf die Verteilung von Leukozyten und die Bildung von Fibrinnetzwerken in Blutgerinnseln untersucht. Die DAPI und Immunfluoreszenz Färbungen zeigten, dass die Musterung von Leukozyten durch Schallwellen beeinflusst werden kann.

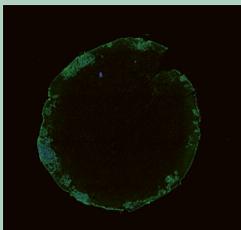


Abb. 1: Gemustertes Blutgerinnsel, gefärbt mit DAPI für Leukozyten (blau) und Immunfluoreszenz für Fibrin (grün).

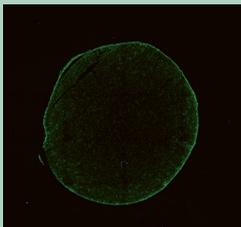


Abb. 2: Nicht gemustertes Blutgerinnsel, gefärbt mit DAPI für Leukozyten (blau) und Immunfluoreszenz für Fibrin (grün).

Risikoanalyse und Prozessevaluation in der Immunhämatologie im Stadtspital Triemli und Waid



Diplomandin	Sophia Tischhauser
Korrektorin ZHAW	PhD Adisa Trnjanin
Korrektorin extern	FAMH, Young-Lan Song, Stadtspital Zürich Triemli

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Stadtspital Zürich Triemli durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit nur summarisch zusammengefasst.

Im Zusammenhang mit der geplanten Fusion der Blutbanken des Stadtspitals Zürich (Triemli und Waid) gewinnen logistische, organisatorische und technische Herausforderungen zunehmend an Bedeutung. Das Ziel dieser Bachelorarbeit war die Durchführung einer vertieften Risikoanalyse und Prozessevaluation im Bereich der Immunhämatologie.

Anhand einer systematischen Auswertung digitalisierter Lieferscheine wurde das Bedarfsmuster des Jahres 2024 nach Tageszeit, Wochentag, Schicht, Produktart und Bestellzeitraum erfasst und mittels Fehlermöglichkeits- und Einflussanalyse (FMEA) bewertet. Die Ergebnisse zeigen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Standorten: Triemli weist ein viermal höheres Bedarfsvolumen sowie deutlich längere Lieferzeiten auf. Besonders ausserplanmässige Anforderungen, vor allem bei Thrombozytenkonzentraten, führen zu Versorgungsrisiken und erheblichen Zusatzkosten. Die FMEA identifiziert kritische Schwachstellen in der Prozesskommunikation, der Transportlogistik und Lagerstrategie. Ergänzend

wurden verschiedene Temperaturüberwachungssysteme und Transportlösungen hinsichtlich ihrer Konformität mit den *Good Distribution Practice (GDP)-Richtlinien*, Praxistauglichkeit und Wirtschaftlichkeit evaluiert. Dabei wurde ein strukturierter Projektplan zur Validierung der Temperaturüberwachungssysteme entwickelt, um deren zuverlässige Implementierung und eine langfristig sichere sowie effiziente Versorgung mit Blutprodukten sicherzustellen.

Die Ergebnisse betonen die Notwendigkeit, Massnahmen zur datengestützten und systematischen Prozessoptimierung zu ergreifen, um die Versorgungssicherheit im Rahmen der Zentralisierung langfristig zu gewährleisten.

Optimierung der Routine Empfindlichkeitsprüfung von *Klebsiella oxytoca*



Diplomand	Florian Tribelhorn
Korrektor ZHAW	Dr. Ramon Eichenberger PhD
Korrektor extern	Stefano Mancini PhD, Institut für Medizinische Mikrobiologie Universität Zürich

Klebsiella oxytoca complex ist ein häufig nachgewiesenes Bakterium aus klinischen Proben von Menschen. Es kann verschiedenste Krankheitsbilder hervorrufen – von Harnwegsinfekten über Wundinfekte bis zu schwerwiegender Blutvergiftung. Die routinemässige Empfindlichkeitsprüfung (Resistenzprüfung, Antibiogramm) von Bakterien in medizinischen Laboratorien ist ein wichtiger diagnostischer Bestandteil. Eine schnelle zielgerichtete Therapie ist unerlässlich.

In der Bakterienfamilie der «*Enterobacterales*», zu welcher die Klebsiellen gehören, sind β -Lactamasen der häufigste Grund für Resistenzen und Therapieversagen. Diese Enzyme können chromosomal (intrinsische Resistenz) oder plasmidisch (erworbene mobile Resistenz) vorkommen.

Letztere sind für die Spitalhygiene und Ausbruchskontrolle von wichtiger Bedeutung und müssen sehr schnell erkannt werden, damit Ausbrüche verhindert werden können.

In dieser Bachelorarbeit war das Ziel, mit der bekannten Kirby-Bauer «Disk Diffusion» Methode von mittels Next Generation Sequencing (short read) sequenzierten *Klebsiella oxytoca complex* Stämmen, Daten auszuwerten (Hemmhof-Millimeter und Resistenzkategorie) und Muster zu erkennen, wie zukünftig bei Empfindlichkeitsprüfungen abgelesen werden kann, ob ein Bakterienstamm nun plasmidische (z. B. ESBL) oder die chromosomale überproduzierte Variante (hOXY) trägt.



Abb. 1: Antibiogramm, rot = resistent, grün = empfindlich, violett = keine Interpretation.

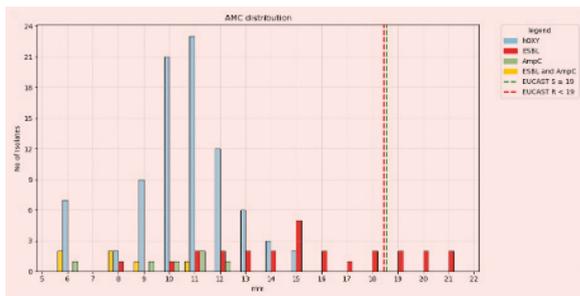


Abb. 2: Augmentin Verteilung nach Anzahl Isolaten und Resistenzkategorie.

Algorithmic prediction of renal function based on biochemical markers



Diplomandin

Jasmin Varga-Linder

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Sven Hirsch, Dr. med. vet. Julia Traversari,
Prof. Dr. Sandro Manni

Chronic kidney disease (CKD) represents a significant global health challenge, affecting approximately 10 % of the world's population. Early detection is essential for effective disease management and for preventing progression to end-stage renal disease. While several biomarkers – most notably the estimated glomerular filtration rate (eGFR) – are routinely used for CKD diagnosis, they exhibit limitations, particularly in identifying the disease at its early stages. Consequently, many cases may remain undetected until substantial renal impairment has occurred.

This study aims to develop a machine learning-based approach to distinguish between CKD and non-CKD patients prior to the end-stage phase of the disease. Rather than relying exclusively on eGFR or serum creatinine levels, the proposed models were trained using a diverse set of routinely available clinical biomarkers.

To achieve this, two datasets were sourced and utilized for training six distinct machine learning algorithms: Random Forest, k-Nearest Neighbors (kNN), Neural Network, CN2 Rule Induction, Decision Tree, and Naive Bayes. These models were systematically evaluated and compared in terms of their classification performance. Validation on independent test data revealed promising outcomes, indicating that machine learning models trained on routine clinical parameters hold substantial potential for enhancing early detection of CKD and supporting timely clinical decision-making.

Formulierungsentwicklung und Analyse von Liposomen zum Nachweis von porenbildenden Proteinen



Diplomandin

Ivana Vujinovic

Korrektor/-in ZHAW

Dr. Andrea Baier, PD Dr. René Köffel

Liposomen sind künstlich hergestellte, vesikelartige Strukturen und wurden in den letzten Jahren intensiv weiterentwickelt. Sie finden sich in vielen Bereichen wieder, etwa in der Pharmaindustrie, Kosmetik oder Lebensmitteltechnologie. Ihre Eigenschaften wie biologische Abbaubarkeit, Biokompatibilität, geringe Toxizität und zielgerichtete Wirkstofffreisetzung machen sie äusserst attraktiv, besonders als Drug-Delivery-System.

Aktuell werden Hämolyse-Assays mit Erythrozyten als standardisierte diagnostische Methode zum Nachweis porenbildender Proteine eingesetzt. Da sie jedoch nicht robust, wenig reproduzierbar und durch den Einsatz von Blut ethisch bedenklich sind, ist ein alternatives Testsystem erwünscht. Da Liposomen in ihrer Struktur eukaryotischen Zellmembranen ähneln, können sie diese ersetzen. Das langfristige

Ziel ist es, Liposomen mit einem fluoreszierenden Marker einzuschliessen. Wenn sie mit einem bakteriellen Toxin, beispielsweise Pneumolysin (PLY), in Kontakt treten, wird ihre Membran perforiert, der Inhalt tritt aus, und die Freisetzung des Markers kann gemessen werden.

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurden Liposomen zunächst nach dem klassischen Verfahren der Lipidfilmhydratation nach Bangham hergestellt. Anschliessend wurde ihre Stabilität über einen Zeitraum von 12 Tagen ermittelt (Tag 0, 5 und 12). Zudem wurde die Grösse der Liposomen mittels Dynamic Light Scattering (DLS) und Laser Diffraction analysiert. Abschliessend wurde ihre Pelletierbarkeit untersucht, ein wichtiger Aspekt für eine zukünftige Anwendung in einem potenziellen Liposomen-Assay.

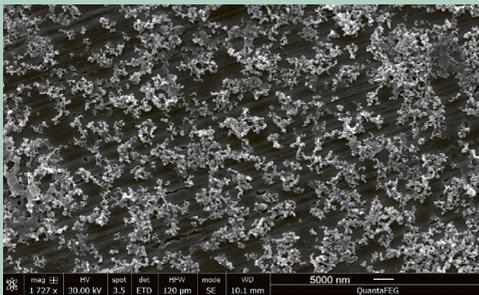


Abb. 1: SEM-Aufnahme von fluoresceinverpackelten Liposomen (1:50 in PBS) bei 1'727-facher Vergrößerung. Sie zeigt eine gleichmässige Verteilung der Liposomen in der Probe. Die Liposomen erscheinen gleichmässig verteilt in kleinen Aggregaten.

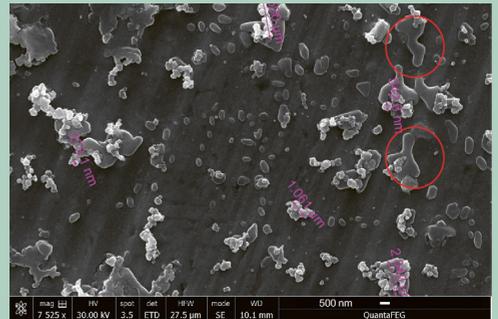


Abb. 2: SEM-Aufnahme von fluoresceinverpackelten Liposomen (1:100 in PBS) bei 7'525-facher Vergrößerung. Überwiegend kleine Aggregate, einzelne Liposomen weniger klar erkennbar sind (eigene Darstellung).

In vitro Wirksamkeit neuartiger Antibiotika gegen Carbapenem-resistenten *A. baumannii*



Diplomandin	Ksenia Weiss
Korrektorin ZHAW	Dr. sc. nat. Adisa Trnjanin
Korrektor extern	Prof. Dr. Adrian Egli, Institut Medizinische Mikrobiologie, Universität Zürich

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Universität Zürich, Institut Medizinische Mikrobiologie durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Elektroanalyse von Capsaicin



Diplomandin Ying Yi Du

Korrektoren ZHAW Dr. Juan Gualberto Limon Petersen, Prof. Dr. Caspar Demuth

Ziel dieser Bachelorarbeit ist es, die Machbarkeit der zyklischen Voltammetrie (CV) und Differentialpulsvoltammetrie (DPV) zur präzisen Detektion von Capsaicin und zur Bestimmung der Capsaicin-Konzentration in verschiedenen Proben von Chilischoten, -pulver und -sauce unter Verwendung von Siebdruck-Kohlenstoffelektroden (SPCEs) zu evaluieren. Dabei werden auch die Herausforderungen, die mit den praktischen Anwendungen dieser Methoden verbunden sind, thematisiert. Chilischoten sind ein weltweit konsumiertes Nahrungsmittel, das nicht nur einen hohen wirtschaftlichen Wert hat, sondern auch für seine Farbe, seinen Geschmack und seine ernährungsphysiologischen Eigenschaften bekannt ist. Capsaicin (8-Methyl-N-vanillyl-trans-6-nonenamid) ist ein Alkaloid aus der Gattung *Capsicum*, das für die Schärfe der Chilischoten verantwortlich ist und ein brennendes Gefühl bei Säugetieren verursacht. Capsaicin und Dihydrocapsaicin machen etwa 90 % der Capsaicinoide aus. Capsaicin ist nicht nur ein wichtiger Inhaltsstoff in der Pharmazie, Kosmetik und in Nahrungsergänzungsmitteln, sondern besitzt biologische Eigenschaften und Anwendungen, die sich positiv auf die menschliche Gesundheit auswirken können. Zur Analyse des Redoxverhaltens von Capsaicin wurden CV- und DPV-Messungen mit SPCEs durchgeführt. Aufsteigende Konzentrationen von Capsaicin wurden in Puffer (pH 1) gegeben und mittels Potentiostat vermes-

sen (Abb. 1). Die aus den erhaltenen Voltammogrammen abgeleitete Kalibrationskurve zeigte eine hohe lineare Korrelation zwischen Peakhöhe und Konzentration ($R^2 = 0,9792$) sowie eine Nachweisgrenze (LOD) von $0.5021 \mu\text{mol/L}$.

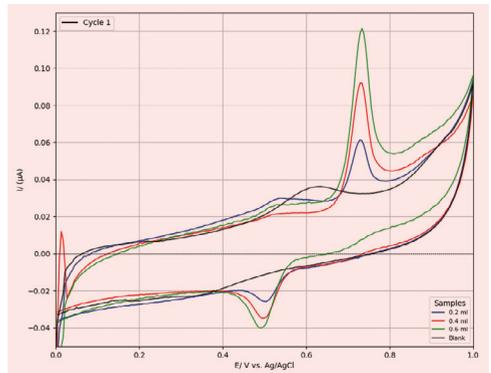


Abb. 1: Zyklisches Voltammogramm bei aufsteigender Konzentration der 1:10-Verdünnung von Capsaicin in 20 ml B-R-Puffer (pH 1) unter Verwendung von SPCEs.

Die mit der CV-Methode bestimmten Capsaicin-Konzentrationen wurden mit einer Referenzmethode (HPLC) verglichen und zeigten eine hohe Korrelation ($R^2 = 0.9864$). Die Methode erwies sich als präzise und die Sensoren waren einfach zu handhaben. Selten traten jedoch nicht interpretierbare Voltammogramme auf, was Fragen hinsichtlich der gleichbleibenden Sensorqualität aufwarf.

Development of a Stool PCR Test for *Helicobacter pylori* and associated Antibiotic Resistance Genes



Diplomand	Christophe Zehnder
Korrektor ZHAW	Dr. med. Emanuel Zampiccoli
Korrektor extern	Patrick Stähli-Adamus, MSc, FAMH Medizinische Mikrobiologie, Medics Labor AG

Helicobacter pylori (*H. pylori*) ist ein gram-negatives, spiralig geformtes Bakterium, das die Magenschleimhaut des Menschen besiedelt und weltweit zu den häufigsten chronischen bakteriellen Infektionen zählt. Schätzungen zufolge tragen etwa 50 % der Weltbevölkerung diesen Erreger. Die Infektion wird mit verschiedenen Erkrankungen in Verbindung gebracht, darunter chronische Gastritis, peptische Ulkuskrankheiten, Magenkarzinome sowie MALT-Lymphome. Häufig verläuft die Besiedelung asymptomatisch; bei positivem Nachweis wird jedoch eine Eradikationstherapie empfohlen.

Bestandteil dieser Therapie ist Clarithromycin, gegen das jedoch zunehmend Resistenzen beobachtet werden. Diese Resistenzen beruhen auf drei Punktmutationen im 23S-rRNA-Gen von *H. pylori* (A2142C, A2142G und A2143G). Um die bislang übliche Diagnostik mittels Magenbiopsie und anschliessender bakterieller Kultur mit Resistenzbestimmung zu ergänzen oder zu ersetzen, wurden molekularbiologische Nachweisverfahren entwickelt, deren Einsatzmöglichkeiten jedoch derzeit noch eingeschränkt sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung einer quantitativen PCR (qPCR), die einen direkten Nachweis von *H. pylori* aus Stuhlproben (nativ) ermöglicht und

gleichzeitig drei Mutationen im 23S-rRNA-Gen, welche mit einer Clarithromycin-Resistenz assoziiert sind, erfassen kann. Hierfür wurden spezifische Primer und Hybridisierungs sonden eingesetzt, die ein 267-bp grosses Fragment im 23S-rRNA-Gen amplifizieren und selektiv an die Zielsequenzen binden. Mithilfe einer Schmelzkurvenanalyse sollte zwischen Wildtyp und Mutationen unterschieden werden.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Mutationen in positiven DNA-Eluaten zuverlässig vom Wildtyp differenziert werden konnten. Eine klare Unterscheidung zwischen den einzelnen Mutationen war jedoch aufgrund zu geringer Unterschiede in den Schmelztemperaturen, insbesondere bei zwei der drei Mutationen, herausfordernd. Zudem zeigte sich, dass die Menge an extrahierter DNA sehr gering war, was zu vielen, vermutlich falsch negativen Ergebnissen in der nachfolgenden PCR führte.

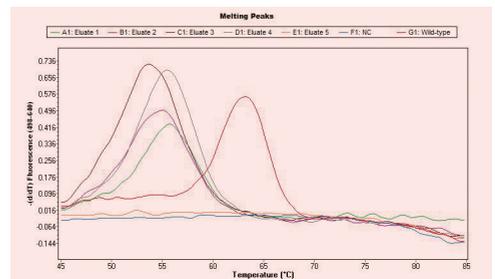


Abb. 1: Schmelzkurvenanalyse von *H. pylori* positiven DNA-Eluaten und Wild-type Kontrolle zur Identifikation einer Clarithromycin-Resistenz (A2142G/A2143G).

Fachgruppen

Biomedizinische

Labordiagnostik

Hämatologie und Immunologie

Die Fachgruppe unter Leitung von PD Dr. René Köffel untersucht sämtliche Blutbestandteile, speziell Immunzellen, mittels humaner Zellkulturen. Sie nutzen Methoden wie Durchflusszytometrie (FACS), qPCR und Fluoreszenzmikroskopie, um Pathomechanismen von Hautentzündungen und Infektionen zu erforschen. Ziel ist die Entwicklung von In-vitro-Modellen und innovativen Therapien «animal-free». Die gut ausgestatteten Labore ermöglichen Standard- und Spezialanalysen. Die Zusammenarbeit mit Industriepartnern umfasst Validierung innovativer Geräte und blutbasierter Therapien.

Histologie und Zytologie

Lehr- und Forschungsschwerpunkt ist die Entwicklung von in vitro Systemen zur Narbenbildung, der Herstellung von humanen organotypischen Systemen unter Verwendung von Stammzellen, zur tierversuchsfreien Medikamententestung. Methoden wie Zellkultur, Bioprinting, Automatisierung, und macromolecular crowding kommen zum Einsatz. Die Gruppe ist an der Entwicklung von regenerativen Zelltherapien beteiligt und bietet die komplette Infrastruktur eines Histologielabors für Bachelor/Masterarbeiten sowie Industrie-Kollaborationen.

Klinische Chemie

Unter der Leitung von Prof. Dr. Sandro Manni widmet sich das Team der Forschungsgruppe Klinische Chemie der Untersuchung molekularer Grundlagen von Krankheiten sowie der Identifikation und Validierung neuer Biomarker, die als Schlüssel zur Früherkennung und präzisen Diagnostik dienen sollen. Dabei kommen modernste klinisch-chemische, biochemische und immunologische Methoden wie LC-MS/MS oder hochsensitive Immunoassays zum Einsatz. Ein weiterer Schwerpunkt der Forschungsgruppe liegt in der Entwicklung analytischer Workflows zur Identifikation und Charakterisierung von Effektoren unerwünschter Arzneimittelwirkungen sowie in der Identifikation und Evaluierung potenzieller Drug Targets für zielgerichtete Therapien. Durch die Kombination dieser innovativen Ansätze streben wir an, die Effizienz und Wirksamkeit von Behandlungsstrategien zu verbessern, mit dem Ziel, die klinischen Ergebnisse zu optimieren und die Lebensqualität der Patient:innen nachhaltig zu verbessern.

Genomische Diagnostik und Biomedizinische Datenwissenschaft

In Zeiten von steigenden Gesundheitskosten ist eine effiziente Gesundheitsversorgung zentral. Dabei nimmt die genomische Diagnostik eine wichtige Rolle ein. Unter der Leitung von Dr. Emanuel Zampiccoli nutzt die Fachgruppe genetische Methoden, um mehr Wissen über das Genom des Menschen zu erhalten. Sie verwenden neueste Technologien, um eine kosteneffiziente Diagnostik der Zukunft zu formen. Ihr Ziel ist es, die Anwendung von genomischen Daten in der Diagnostik zu fördern, um eine individualisierte und effizientere Gesundheitsversorgung zu erhalten.

Medizinische Mikro- und Molekularbiologie

Der Schwerpunkt der Fachgruppe unter der Leitung von Dr. Eichenberger ist die Entwicklung von diagnostischen Tests in der Mikrobiologie. Dabei wird das gesamte Spektrum von der diagnostischen Kandidatenselektion, über die Kandidaten-

produktion, -screening und Testevaluation, bis hin zur Prototyp Herstellung von diagnostischen Tests abgedeckt. Ein besonderer Schwerpunkt der Gruppe liegt auf immunologischen Verfahren (ELISA, IFA, EIB, LFA) für den Nachweis von parasitären Infektionen im Tier und Menschen.

Selbst und Patientennahe Diagnostik

Die Fachgruppe unter der Leitung von Dr. Sylvia Kaap-Fröhlich fokussiert sich auf die Entwicklung, Validierung und sichere Anwendung von Point-of-Care- und Selbstdiagnostik-Tests. Dabei stehen Laborsicherheit, Qualitätskontrolle und Patientensicherheit im Zentrum. Die Gruppe entwickelt SOPs, testet Geräte auf Anwenderfreundlichkeit und Präzision, und analysiert Risiken durch Fehlanwendung oder fehlerhafte Interpretation.



Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT)

Das ICBT ist eines der naturwissenschaftlichen Institute der ZHAW. Es betreibt angewandte Forschung zu brandaktuellen Themen rund um Gesundheit, Chemie, Biotechnologie und Umwelt – von Antibiotikaresistenzen oder antiviralen Wirkstoffen über Mikroplastik bis hin zu nachhaltigeren chemischen Prozessen. In drei Bachelorstudiengängen und zwei Studienrichtungen im Master bildet das ICBT junge Menschen für den Wachstumsmarkt Life Sciences aus.



Lehre

Das ICBT bietet drei Bachelorstudiengänge an: den Bachelor in Biotechnologie mit Vertiefung «Bioprozessentwicklung und Bioengineering» oder «Molekular-, Mikro- und Zellbiologie», den Bachelor in Chemie mit Vertiefung «Chemie» oder «Biologische Chemie» und den Bachelor in Biomedizinischer Labordiagnostik.

Im forschungsbasierten Masterstudien-gang «Master of Science of Life Sciences» werden die Vertiefungen «Pharmaceutical Biotechnology» und «Chemistry for the Life Sciences» angeboten.

Weiterbildung

Das ICBT bietet massgeschneiderte Weiterbildungsprogramme an. Individuelle Weiterbildungen für Firmen werden an den spezifischen Kundenbedürfnissen ausgerichtet. Internationale Fachtagungen und die «CAS The Science and Art of Coffee» sowie «CAS in Coffee Excellence» runden das Portfolio ab.

Forschung, Entwicklung und Dienstleistungen

Die naturwissenschaftliche Forschung des ICBT ist am Markt orientiert. Für seine Partner bringt das Institut Produkte und Verfahren voran, die das Potenzial haben, sich schnell am Markt zu etablieren.

Unsere strategischen Schwerpunkte:

- **Sustainable Solutions:** Wir gestalten und optimieren biotechnologische, biokatalytische und chemische Produktionsprozesse, Anlagen und Verfahren.
- **Pharma Innovation:** Wir erforschen und entwickeln innovative Therapeutika und suchen neue Wege zur Herstellung von Gewebemodellen für Testung, Diagnostik und Therapie.
- **Detection and Diagnostics:** Wir wenden instrumentell-analytische und bioanalytische Methoden und Technologien an für den Nachweis von Stoffen und eine sichere und effiziente Labordiagnostik.
- **Smart Materials:** Wir kreieren nanostrukturierte und funktionelle Materialien mit spezifischen Eigenschaften, die in verschiedenen Bereichen der Life Sciences zur Anwendung kommen.



Mehr über unser Institut:
www.zhaw.ch/icbt

ALUMNI ZHAW

Damit Sie sich auch nach Ihrem Studium vernetzen können, steht Ihnen der Verein ALUMNI ZHAW mit den Fachbereichen «Life Sciences» und «Facility Management» zur Verfügung. Diese organisieren Events zu unterschiedlichen Anlässen, fachspezifische Vorträge und Besichtigungen und pflegen den Kontakt zu den Berufsverbänden und weiteren Alumni-Organisationen.



Melde dich gleich an:
www.alumni-zhaw.ch

Geschäftsstelle ALUMNI ZHAW
ALUMNI ZHAW
Gertrudstrasse 15
8400 Winterthur
052 203 47 00
services@alumni-zhaw.ch

ZHAW LSFM

Die ZHAW ist eine der führenden Schweizer Hochschulen für Angewandte Wissenschaften. Sie ist in Lehre, Forschung, Weiterbildung und Dienstleistung tätig – praxisnah und wissenschaftlich fundiert. Mit ihren Standorten in Winterthur, Zürich und Wädenswil ist sie regional verankert und kooperiert mit internationalen Partnern. Die Hochschule umfasst acht Departemente. Derzeit sind über 14 000 Studierende an der ZHAW eingeschrieben.

Das Departement

Studieren und Forschen in Wädenswil: praxisnah, kreativ, leidenschaftlich und reflektiert. Dafür steht das Departement Life Sciences und Facility Management ein. Derzeit sind nahezu 1800 Studierende immatrikuliert und über 600 Personen in Wädenswil beschäftigt. Mit den Kompetenzen in Life Sciences und Facility Management leistet das Departement in den Gebieten Environment, Food und Health einen wichtigen Beitrag zur Lösung gesellschaftlicher Herausforderungen und zur Erhöhung der Lebensqualität.

Bachelor, Master und Weiterbildung

Das Aus- und Weiterbildungsprogramm umfasst sieben Bachelor- und vier Masterstudiengänge sowie ein breites Weiterbildungsangebot. Das Bachelorstudium führt zur Berufsbefähigung und vermittelt praxisorientiertes Fachwissen, Allgemeinbildung sowie Arbeitsmethodik. Das konsekutive Masterstudium führt zur Spezialisierung in der angestammten Studienrichtung und zum Erwerb von Zusatzqualifikationen. Permanente

Weiterbildung ist heute eine wichtige Voraussetzung für den beruflichen Erfolg. An der ZHAW gibt es massgeschneiderte Kurse, Tagungen und Weiterbildungsstudiengänge.

Forschung und Entwicklung

Forschungsstarke Institute leisten einen wichtigen Beitrag in Form von Forschung, Entwicklung und Dienstleistung. Sie arbeiten mit Wirtschaft, Behörden, Verbänden und anderen Forschungsinstituten eng zusammen. Die Kooperation mit externen Auftraggebern sichert den Wissens- und Technologietransfer zwischen Hochschule und Praxis.



Weitere Infos zu ZHAW LSFM:
www.zhaw.ch/lsfm

ZHAW Zürcher Hochschule für
Angewandte Wissenschaften

**Life Sciences und
Facility Management**

ICBT Institut für

Chemie und Biotechnologie

Studiengang Biomedizinische Labordiagnostik

Grüntalstrasse 14

Postfach

8820 Wädenswil

Tel. +41 58 934 50 00

info.icbt@zhaw.ch

www.zhaw.ch/icbt

Für weitere Informationen
besuchen Sie unsere Webseite:
www.zhaw.ch

