

Nachweis von MRSA und ESBL-Bildnern

Einfach oder schnell – das ist die Frage

Für die Erkennung multiresistenter Bakterien sind zahlreiche Nachweisverfahren verfügbar, die auf unterschiedlichen Prinzipien und Technologien basieren. Klassische Hemmtests sind einfach durchzuführen, Genotypisierungen liefern schnell genaue Ergebnisse.



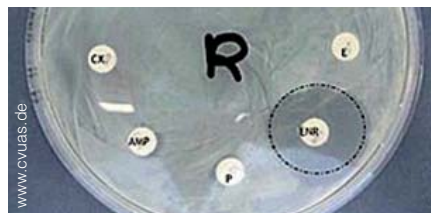
© Anja Bach, www.anbafotografie.de

Multiresistente Keime verursachen in Deutschland jährlich rund eine halbe Million Infektionen, von denen nach unterschiedlichen Schätzungen 10.000 bis 40.000 tödlich verlaufen. Während der methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) seit einem halben Jahrhundert bekannt ist, traten ESBL-Bildner (Keime mit einem erweiterten Spektrum von Beta-Laktamasen) erst in den letzten Jahren als medizinische Herausforderung auf den Plan. Im Klinikalltag kommt es vor allem auf Schnelligkeit beim Nachweis an, um infizierte Patienten rechtzeitig isolieren und gegebenenfalls mit Reserveantibiotika behandeln zu können. Dafür gibt es verschiedene Verfahren, die Ergebnisse innerhalb von zwei Stunden oder aber auch von zwei Tagen liefern. Sie gliedern sich in phänotypische und genotypische Tests.

Resistenztestungen

Einfach und kostengünstig sind funktionelle Tests, die den hemmenden Einfluss von Antibiotika auf das Bakterienwachstum als Kriterium nützen. Bei diesen „phänotypischen“ Verfahren kann man die zu prüfenden Substanzen entweder in einer flüssigen Bouillon lösen (Bild links) oder mit Filterpapierblättchen auf ein festes Agarmedium aufbringen (Bild unten). Das Ergebnis der Tests bezeichnet man als Antibiogramm.

Mit einer Mikrobouillondilution bestimmt man die exakte minimale Hemmkonzentration (MHK) eines Antibiotikums in Verdünnungsreihen, während man beim Agardiffusionstest unterschiedlich große Hemmhöfe (transparente Flächen ohne Bakterienwachstum) rund um antibiotikahaltige Plättchen ausmisst; zeigt sich kein Hemmhof, dann ist der Erreger resistent. Nachteil der phänotypischen Verfahren: Sie benötigen relativ viel, manchmal zu viel Zeit, denn sie setzen ein Bakterienwachstum in der Kultur voraus. Das kann je nach Mikroorganismus Inkubationszeiten von bis zu zwei Tagen erfordern.



MRSA im Resistenztest. Nur bei einem einzigen Antibiotikum (siehe Kreis) ist ein Hemmhof um das Plättchen zu sehen.

Genotypisierung

Deutlich schneller und genauer, aber auch teurer sind genotypische Verfahren. Mithilfe der Polymerasekettenreaktion (in der Regel als multiplex-PCR), bei einigen Herstellern auch mit Microarrays, identifiziert man sowohl die Erregerspezies, zum Beispiel *S. aureus* oder *E. coli*, als auch Gensequenzen, die für bestimmte Resistenzen wie *mecA*, *AMP-C* usw. kodieren. Da für die genotypischen Methoden keine Kultivierung der Erreger notwendig ist, liefern sie schon nach wenigen Stunden Ergebnisse, die sehr spezifisch Auskunft über den Resistenztyp geben.

Während der Nachweis von MRSA über das *mecA*-Gen relativ einfach gelingt, stellt die Genotypisierung von ESBL-Bildnern derzeit noch eine Herausforderung dar. Das liegt zum einen an der großen Zahl unterschiedlicher ESBL-Gene, die erfasst werden müssen; so kennt man allein über 100 verschiedene TEM- β -Laktamasen. Zum anderen unterscheiden sich ESBL-Produzenten oft nur durch wenige Mutationen voneinander, die aber durchaus erhebliche Unterschiede im Ansprechen auf Antibiotika zur Folge haben können. Deshalb erfordert die molekularbiologische ESBL-Charakterisierung weitere Investitionen in die Methodenentwicklung sowie hohes Fachwissen seitens des Labors. 🌸

Dr. Elke Matuschek
Mitglied der Redaktion

Produktübersicht

Rund drei Dutzend Hersteller bieten in Deutschland Tests auf multiresistente Keime an – ein Zeichen für ihre medizinische und wirtschaftliche Relevanz bei dieser hochaktuellen mikrobiologischen Fragestellung. Die auf dieser und den folgenden Seiten gezeigte Auswahl gibt – ohne Anspruch auf Vollständigkeit – einen Eindruck von der Vielfalt der Applikationen.

Der phänotypische Test der Mast Group wird auf Agarplatten durchgeführt und basiert auf einem ausgetüftelten Testblättchen-System zur Erfassung zahlreicher ESBL-Resistenzmechanismen. MERLIN Diagnostika bietet dagegen ein Mikrodilutionsverfahren im Mikrotiterplattenformat an, das mit einem Expertensystem gekoppelt ist. Für die Genotypisierung werden drei PCR-Verfahren vorgestellt: Amplex BioSystems fokussiert sich auf den einfachen Nachweis ESBL-kodierender Gene aus Nativmaterialien. Roche hat sich mit der universell einsetzbaren LightCycler-Plattform auf eine detaillierte MRSA-Charakterisierung spezialisiert, und BD bietet u. a. für MRSA eine integrierte Automationslösung für kleine und große Labore an, die alle Schritte von der Prä- bis zur Postanalytik abdeckt.

em, gh



hyplex® ESBL ID

Because we care!



Immer noch liegt die Zahl der nosokomialen Infektionen in deutschen Krankenhäusern bei 800.000 pro Jahr, wovon etwa 40.000 tödlich verlaufen. Doch der größte Teil könnte vermieden werden. Vor allem die bereits „besiegt“ geglaubten gram-negativen Erreger schlagen zurück!

Mit unserem hyplex® ESBL ID Test können erstmals die wichtigsten für ESBL kodierenden Gene direkt aus Blutkultur, Kulturmaterial, Anreicherungen oder Abstrichtupfern eindeutig und kostengünstig in nur 2-4 Stunden nachgewiesen werden. So erhält man durch den Einsatz modernster PCR-Technologie schnell präzise Ergebnisse und gewinnt wertvolle Zeit im Kampf gegen diese multiresistenten Keime.

Kontaktinformation

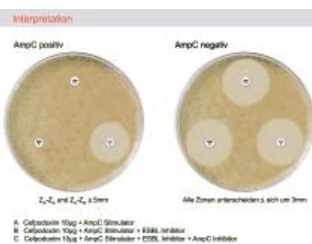
Amplex BioSystems GmbH • www.hyplex.de •
Tel. 08073/91693-50, Fax -55 • support@amplexbiosystems.de

Mast Group



AmpC Detection Set

Kombiniertes Testblättchen-Set für die Identifikation von AmpC-produzierenden Enterobacteriaceae



Detektion ALLER AmpC-Resistenzmechanismen

Die Kombination eines AmpC-Stimulators mit ESBL- und AmpC-Inhibitoren fördert einerseits die AmpC-Produktion, während andererseits gleichzeitig das aktive Zentrum des Enzyms blockiert

wird. Folglich ist es möglich, plasmidische und intrinsisch dereprimierte, induzierbare oder hyperproduzierende AmpCs nachzuweisen – unabhängig davon, wie AmpC-Gene kodiert oder exprimiert werden.

98% Sensitivität, 100% Spezifität

Eine zuverlässige phänotypische AmpC-Detektion minimiert das Risiko von irrtümlich diagnostizierten Cephalosporin-Empfindlichkeiten und verringert entsprechend ernstzunehmende therapeutische Fehler.

Kontaktinformation

Mast Diagnostica GmbH • www.mastgrp.com •
Tel. 04533/2007-0 • mast@mast-diagnostica.de



MICRONAUT-S β-Lactamase VI System

Nachweis multipler β-Laktamasen (multipler Resistenzdeterminanten) in einem einzigen Testsystem

MICRONAUT-S liefert, basierend auf dem Mikrodilutionsverfahren, den phänotypischen Nachweis zur Detektion klinisch relevanter Cephalosporinasen und Carbapenemasen bei Enterobakterien und Nonfermentern.



- Phänotypische Detektion der β-Laktamasen basierend auf Unterschieden in Bezug auf Substratspezifität und Hemmung durch β-Laktamase-Inhibitoren
- Hohe Zuverlässigkeit beim phänotypischen Nachweis der β-Laktamasen des ESBL-, AMP-C, KPC- und MBL-Typs
- Expert-Software als integraler Bestandteil zur Auswertung der MHK-Daten und Taxon-spezifischen Interpretation
- Angaben zum Lokalisationsort der Resistenzdeterminanten sowie Verdachtsdiagnosen bei nicht direkt nachweisbaren Resistenzdeterminanten

Kontaktinformation

MERLIN GmbH • www.merlin-diagnostika.de •
Dr. Holger Schedletzky • Tel. 02222/9631-23

BD MAX™: flexibel, effizient und vielseitig

Offene Plattform für die vollautomatisierte molekularbiologische Diagnostik

Das BD MAX™ System bietet eine Vielfalt an Möglichkeiten. Durch seine einzigartige duale Funktionalität ist es erstmals möglich, sowohl „Inhouse“-Protokolle als auch IVD-Protokolle in einem einzigen System abzuwickeln. So können Labore eine breite Palette von molekularbiologischen Tests auf nur einem System konsolidieren.

Das BD MAX™ System vereint vollautomatisierte Zell-Lyse, DNA- und RNA-Extraktion, Real-Time-PCR-Ansätze sowie die Amplifikation und Detektion in einem einzigen System. Mit dem BD MAX™ als kompaktes Tischgerät lassen sich verschiedenste Probenaufkommen bewältigen und so maximale Effizienz und Flexibilität im Labor erzeugen. Proben von bis zu 24 Patienten können pro Lauf parallel innerhalb von zweieinhalb Stunden analysiert werden. Kleine Serien von bis zu vier Proben sind in weniger als 90 Minuten bearbeitbar. Der vollautomatische Betrieb erlaubt es, im Labor zusätzliche Zeit für andere Tätigkeiten zu gewinnen, was wiederum die Effizienz und die Produktivität steigert. Die offene Systemarchitektur und die universell einsetzbaren Reagenzien-Streifen schaffen große Freiräume zur Implementierung eigener DNA- und RNA-Tests.

Mit den BD MAX™ MRSA- und GBS-Tests für B-Streptokokken stehen die ersten einer größeren Reihe von IVD-Tests für Infektionskrankheiten zur Verfügung. Weitere derzeit in Entwicklung befindliche Parameter wie ein zusätzlicher MRSA/SA/mecA, VRE und Cdiff u. a. werden in Kürze folgen. BD arbeitet derzeit mit drei namhaften Reagenzienherstellern als Partner zusammen und hat mehr als 20 weitere molekularbiologische Multiplex-Tests in Planung.

Aktive MRSA-Surveillance durch „True Walkaway“ Automatisierung

Infektionen mit Methicillin-resistentem Staphylococcus aureus sind weiterhin weltweit signifikante Ursachen für Morbidität und Mortalität in medizinischen und pflegerischen Einrichtungen.

Eine aktive Surveillance von MRSA-infizierten Patienten ist eine effektive Strategie zur Minderung von Transmissionen und Infektionen in Krankenhäusern und anderen Gesundheitseinrichtungen (Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010). Surveillance-Programme, die eine schnelle molekulare Nachweismethode mit sofort wirksamen und geeigneten Maßnahmen zur Infektionsbekämpfung kombinieren, konnten MRSA-Infektionen und/oder Übertragungsraten erfolgreich senken.

BD MAX™ MRSA standardisiert Arbeitsabläufe

Mit bis zu 24 Ergebnissen in weniger als 3 Stunden lässt sich der BD MAX™ mühelos in den Arbeitsablauf Ihres Routinelabors integrieren.

Vorteile des BD MAX™ MRSA

- erkennt kolonisierte Patienten in kürzester Zeit
- ermöglicht die sofortige Umsetzung von Maßnahmen zur Isolation und Infektionskontrolle
- verbessert den Behandlungserfolg und senkt das Übertragungsrisiko

BD MAX™ MRSA Klinische Daten

- Sensitivität: 96.0%
- Spezifität: 96.5%
- Negativer Vorhersagewert: 99,6%

BD MAX™ MRSA: Einfache Durchführung – nur 1,5 Minuten manuelle Arbeit pro Probe



Abstrichtupfer im Probenröhrchen abbrechen



Reagenzien einklicken



Probenröhrchen ins Rack einsetzen



PCR-Cartridge(s) laden



Lauf am BD MAX™ starten



Entfernen des Abstrichtupfers dank durchstechbarer Kappe unnötig

Weitere Vorteile: Anbindung an Laborinformationssysteme +++
Probenpositionsidentifikation +++ Trackingsystem für Reagenzien

Kontaktinformation

BD Diagnostics • Claudio Priscoglio • Tel. 06221/305-389 • claudio_priscoglio@europe.bd.com • www.bd.com

Schnelles und einfaches MRSA-Screening

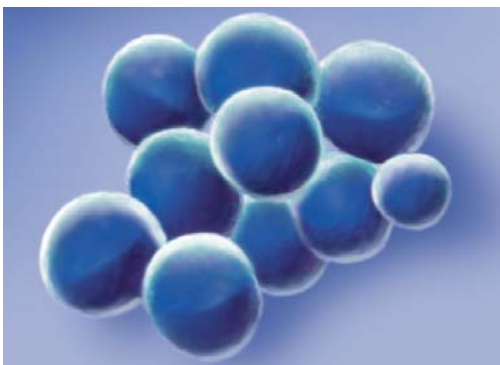
Der LightCycler® MRSA Advanced Test

In den letzten Jahren hat die Anzahl resistenter Krankenhauskeime stetig zugenommen. Eine besondere Stellung nimmt der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) ein. Aufgrund seiner leichten Übertragung und der schwer zu behandelnden Infektionen stellt MRSA Krankenhäuser und Pflegeeinrichtungen vor besondere Herausforderungen.

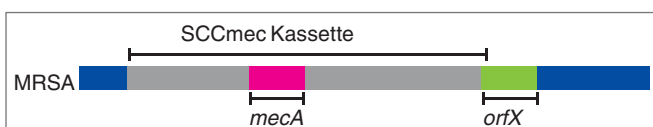
MRSA – Epidemiologie und Klinik

Die MRSA-Rate bezeichnet den Anteil der Methicillin-resistenten *S. aureus* an allen *S. aureus*-Kulturen. Deutschland liegt im europäischen Vergleich mit einer Rate von 22% im Mittelfeld (EARSS Report 2005), allerdings mit hohen Zuwächsen in den letzten zehn Jahren. Knapp ein Prozent der stationären Krankenhauspatienten pro Jahr sind MRSA-Träger, ein Drittel von ihnen entwickelt eine MRSA-Infektion. Diese ist aufgrund ihrer Resistenz und hohen Virulenz schwierig zu therapieren. In den Empfehlungen des Robert-Koch-Instituts zur Kontrolle von MRSA wird ein selektives Screening von Risikogruppen empfohlen, dessen Nutzen durch viele Untersuchungen auch belegt ist. An der Medizinischen Hochschule Hannover konnte nach Einführung eines Screeningprogramms die Zahl der nosokomialen MRSA-Infektionen um 57% reduziert werden (Chaberny et al. 2008).

Um den MRSA-Status eines Patienten möglichst schnell zu ermitteln, werden seit einigen Jahren vermehrt PCR-Tests eingesetzt. Während kulturelle Nachweisverfahren 24 bis 48 Stunden für einen Befund benötigen, ermöglicht die PCR den MRSA-Nachweis in weniger als zwei Stunden.



Oben: *Staphylococcus aureus*. Unten: Integrationsstelle der SCCmec Kasette im *S. aureus*-Genom (nicht maßstabsgetreu).



LightCycler® MRSA Advanced Test

Der seit 2009 verfügbare Test weist die Insertionsstelle zwischen der Resistenz-vermittelnden SCCmec-Kassette und dem *orfX* Gen nach. Dadurch kann MRSA von Methicillin-sensitiven *S. aureus* und anderen Staphylokokken differenziert werden. In den letzten Jahren sind immer neue MRSA-Stämme isoliert worden. Die Entwicklung der Primer und Sonden für den MRSA Advanced Test wurde mit 2800 MRSA-Stämmen und 500 Nicht-MRSA-Staphylokokken überprüft. Der Test kann alle bekannten SCCmec-Typen nachweisen.



LightCycler 2.0 IVD

Schnell und kontaminationssicher

Entscheidend für einen guten Screeningtest sind Sensitivität, Spezifität, Geschwindigkeit und ein einfacher und damit ökonomischer Workflow. Bei der Entwicklung des LightCycler® MRSA Advanced Tests wurde diesen Aspekten Rechnung getragen. Der gesamte Ablauf vom Abstrich bis zum Befund dauert zirka 100 Minuten.

Die Probenvorbereitung beinhaltet wenige Schritte und kann ohne Pipettieren durchgeführt werden. Die erforderlichen Reagenzien sind vorportioniert. Das ermöglicht einen schnellen und kontaminationssicheren Arbeitsablauf. Für einen einzelnen Abstrichtupfer dauert die Probenvorbereitung nur 5 bis 6 Minuten. Es können Ansätze flexibel von einer bis zu 30 Proben ohne Reagenzverlust durchgeführt werden. Zur Qualitätssicherung wird in jeder Probe eine interne Kontrolle mitgeführt. Das bewährte AmpErase System, das verschleppte Amplifikate vor der PCR abbaut, verhindert falsch-positive Ergebnisse. Für eine Test-Performance im Vergleich zur Kultur stehen klinische Ergebnisse zur Verfügung.

Ob kleiner oder großer Durchsatz – der LightCycler® MRSA Advanced Test ist aufgrund der Geschwindigkeit, der einfachen Durchführung und der Ergebnissicherheit ein idealer Screeningtest und mit wenig Aufwand implementierbar.

Kontaktinformation

Roche Diagnostics Deutschland GmbH • Dr. Achim Häcker • Tel. 0621/759-9373 • Achim.Haecker@roche.com • www.roche.de