

**Diagnostische Strategien**

# Der direkte Zugang zur Resistenz

**Klassische Resistenztests werden in der Kultur durchgeführt. Das ist einfach und sicher, doch bis man weiß, ob die Keime wachsen oder nicht, vergeht viel Zeit. Schneller kommt man mit molekularbiologischen Verfahren ans Ziel, die die Resistenzgene direkt nachweisen.**

„Erreger und Resistenz“ lautet der Auftrag des Klinikers an das Labor, wenn es um die Abklärung einer Infektion bei einem Patienten geht. Im Labor werden aus dem Probenmaterial Einzelkolonien isoliert, aus denen die Bestimmung der Erregerspezies und des Antibiogramms erfolgt. Sämtliche Schritte nehmen 72 Stunden und mehr in Anspruch.

Seit Keime mit Resistenzen gegen die bis dahin gut wirksamen Antibiotika auf dem Vormarsch sind und ein oft lebensbedrohliches Problem darstellen, lassen sich diese 72 Stunden kaum noch akzeptieren. Molekularbiologische Testsysteme liefern innerhalb von maximal zwei Stunden ebenfalls das Resultat „Erreger und Resistenz“, indem sie mit Hybridisierungs- und Vervielfältigungstechniken neben keimspezifischen Genen auch solche nachweisen, deren Genprodukte

für die Resistenz verantwortlich sind. Beide Methoden haben Vor- und Nachteile (siehe Tabelle), und tatsächlich besteht die ideale Vorgehensweise in einer Kombination. Der molekularbiologische Direktnachweis liefert die Aussage „Resistenzgen vorhanden“ mit einem nur mäßigen, positiv prädiktiven Wert. Der sich anschließende kulturelle Nachweis dient als Bestätigung „Resistenzgen aktiv“ und sichert den Befund ab.

Alle auf den Seiten 76-81 vorgestellten Produkte ermöglichen den molekularbiologischen Nachweis multiresistenter Erreger direkt aus Nasen-/Rachenabstrichen, Wunden und anderen Primärmaterialien. Fünf Hersteller vertreiben Komplettsysteme, bestehend aus einem Gerät zur Nukleinsäureamplifikation und -detektion und den erregerspezifischen Testkits. Letztere beinhalten die spezifischen Oligonukleo-

tid-Primer und alle notwendigen Reagenzien und Enzyme. Bei MRSA wird beispielsweise die sogenannte SCCmec-Genkassette über das mecA-Gen mithilfe charakteristischer Oligonukleotid-Primer nachgewiesen. Dieses vermittelt die namensgebende Methicillin-Resistenz.

### Testkits und Komplettsysteme

Zwei der sieben hier vorgestellten Firmen stellen ausschließlich Testkits her, die dann in Geräten anderer Hersteller eingesetzt werden können. Diejenigen der R-Biopharm AG lassen sich auf unterschiedlichen Cyclern einsetzen (S. 81), während TIB MOLBIOL Tests speziell für die weit verbreiteten Roche-Geräte entwickelt (S. 77). Die Testkits beider Firmen sind auch für die Multiplex-PCR einsetzbar, wodurch mehrere Fragestellungen in einem einzigen Reaktionsansatz geklärt werden können.

Die Komplettsysteme der übrigen fünf Hersteller unterscheiden sich vor allem durch ihre Zielsetzung. Thermo Scientific (S. 80) konzentriert sich auf den Sepsis-Nachweis aus der Blutkultur und kombiniert dabei die Voranreicherung der Sepsiserreger mit einem schnellen System zur Hybridisierung der charakteristischen DNA-Sequenzen mit anschließender Signalverstärkung.

Das Kartuschengerät von Cepheid (S. 78) ist auch für nicht spezialisierte Anwender, beispielsweise in kleinen Krankenhäusern ohne eigenes mikrobiologisches Labor, geeignet. Es bietet eine breite Auswahl

Vergleich	Schnelltest	Kultureller Nachweis
Kosten	20-100 Euro	1-50 Euro
Zeit	< 24 h (min. < 2 Stunden)	18-72 h
Minimum	< 2 Stunden	> 24 Stunden
Positiv prädiktiver Wert	Bei niedriger MRSA-Prävalenz (wie in Deutschland der Fall): 37-85%	100% bei korrekter Bestätigungstestung
Durchführung	Einfache Testdurchführung, ohne aufwändige Arbeitsschritte	Erfordert mikrobiologisches Fachlabor
Nachteil	1. Oft bleiben nach dem Schnelltest die kulturelle Bestätigung und die Resistenzbestimmung aus (fehlendes Bakterienisolat) 2. Falsch positive Ergebnisse führen zu unnötigen Isolierungsmaßnahmen und erschweren die Kommunikation mit dem Patienten	Zeit bis zum Vorliegen des Testergebnisses länger als bei Schnelltest; wenn keine prophylaktische Isolation, erfolgt in dieser Zeit Möglichkeit der Übertragung

*Schnelltest auf DNA-Ebene oder kultureller Nachweis? Die Antwort lautet: beides. Der Schnelltest ermöglicht das Screening auf multiresistente Erreger, der kulturelle Nachweis gibt die Bestätigung (Tabelle adaptiert nach Dr. Robin Köck, Univ. Münster, siehe auch Seite 74 bis 75).*



an Tests, darunter MRSA-Screening, den Nachweis von *C. difficile*, *M. tuberculosis*-Komplex und Rifampicin-Resistenz.

Becton Dickinson (S. 78) präsentiert seinen kompakten Vollautomaten BD Max. Das System erfordert nur wenige Handgriffe, bevor verschiedene Nachweise (unter anderem MRSA und CRE) parallel und vollautomatisch durchgeführt werden.

Hain Lifescience ist mit einem sehr flexiblen PCR-System für zahlreiche Erreger im Markt vertreten. Auf dieser Seite präsentiert das Unternehmen ein umfassendes Programm für das MRSA-Screening.

Schließlich sei auf einen Anwenderbericht aus dem MVZ Labor Dessau hingewiesen (S. 82 f.), der ein Extraktions- und Nachweisverfahren für Erreger aus Stuhlproben beschreibt. Dabei kommen Probenvorbereitungs- und PCR-Systeme der Firma Qiagen zum Einsatz. 🌸

*Dr. Gabriele Egert, Mitglied der Redaktion*

## ModularDx ESBL: Hexaplex Realtime PCR

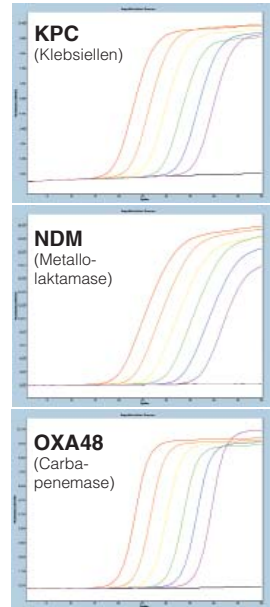
Multiresistente Erreger im Krankenhaus entwickeln sich auch in Europa zunehmend zu einem ernsthaften Problem.

### Sechs auf einen Streich

Mit den neuen ModularDx\* Realtime PCR-Tests kann man entweder einzelne Resistenzgene testen oder in einer Hexaplex PCR bis zu sechs verschiedene ESBL Genfamilien nachweisen, die häufiger in gramnegativen Keimen auftreten. Je nach tatsächlich nachgewiesener Resistenz ergeben sich daraus unterschiedliche Hygienemaßnahmen (z. B. Isolierung).

KPC ist ein Indikator für Klebsiellen, die am häufigsten epidemische Krankenhausinfektionen auslösen. NDM-1 stammt aus Indien und wurde vermutlich durch dort operierte Patienten nach Europa gebracht. VIM und OXA sind häufiger verbreitet, während IMP und GES bei uns noch selten auftreten. Im Cy5 Kanal läuft stets eine Lauf- oder Extraktionskontrolle.

\* ModularDx Kits sind für die Verwendung mit LightCycler® 480 / 96 / Cobas Z 480 konzipiert.



### Kontaktinformation

TIB MOLBIOL GmbH • Olfert Landt • Tel. 030/787994-55 • www.tib-molbiol.com



## FluoroType® MRSA – schneller MRSA-Direktnachweis für jedes Labor

Zahlreiche Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass die MRSA-Übertragungsrate in medizinischen Einrichtungen durch ein schnelles PCR-Screening signifikant gesenkt werden kann. Das bietet – im Unterschied zu kulturbasierten Verfahren – gerade Krankenhäusern einen entscheidenden Zeit- und Kostenvorteil im Kampf gegen MRSA. Mit dem **FluoroType® MRSA** steht ein schnelles und einfaches PCR-Verfahren für Krankenhäuser und Labore zur Verfügung. Das Testsystem auf Basis der innovativen **HyBeacon**-Technologie überzeugt durch hervorragende Leistungsdaten und einen geringen manuellen Aufwand.

### Ihre Vorteile mit FluoroType® MRSA:

- **Schnelles Ergebnis:** Die Testdurchführung erfolgt direkt aus Abstrichen von Nase, Rachen, Haut oder Wunde. Das Testsystem ermöglicht so ein sicheres Ergebnis in nur ca. 2,5 Stunden.
- **Umfassend:** Neben nosokomialen MRSA werden auch ambulant erworbene und besonders virulente CA-MRSA-Stämme, sowie die mit Masttieren assoziierten LA-MRSA rasch und zuverlässig nachgewiesen.
- **Anwenderfreundlich:** Alle Schritte von der Amplifikation bis zur Detektion erfolgen vollautomatisiert im **FluoroCycler®**. Ein Barcode-Scanner sowie eine optionale LIMS-Anbindung erleichtern Ihnen die Arbeit.
- **Flexibel:** Mit **FluoroType® MRSA** können bis zu 96 Proben gleichzeitig oder zeitversetzt analysiert werden. Neben MRSA steht auch eine breite Auswahl weiterer mikrobiologischer, viraler und human-genetischer Parameter zur Verfügung.
- **Kosteneffizient:** Attraktive Konditionen ermöglichen selbst kleinen Laboren ein kosteneffizientes MRSA-Screening.



### Kontaktinformation

Hain Lifescience GmbH • Dr. Melanie Widenmeyer • Tel. 07473/9451-0 • info@hain-lifescience.de • www.hain-lifescience.de