

HLA-Typisierung

Auflösung von cis-/trans-Ambiguitäten

Diagnostik

Vorteile der digitalen Mikroskopie

Radiologische Diagnostik

Zufallsbefunde: Schussverletzung

Pneumologie

Buteyko (Teil 2)

Schneller und gezielter Nachweis von 13 Carbapenemasen

Das gewöhnlich in gram-negativen Bakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae vorkommende Enzym NDM-1, das auch Beta-Laktam-Antibiotika zerstört, hat vor gut 5 Jahren auch in Europa ein erstes Todesopfer gefordert. Schon seit geraumer Zeit sind multiresistente Erreger eine der zentralen Herausforderungen für das Gesundheitssystem. Carbapeneme galten lange als letzte Waffe im Kampf gegen diese Infektionen. Zuletzt stieg jedoch auch hier die Zahl der resistenten Bakterienstämme. Vor allem in Krankenhäusern und deren Umfeld war eine zunehmende Verbreitung Carbapenem-hydrolysierender β -Laktamasen bei Enterobacteriaceae zu beobachten. Die Mortalitätsrate der Betroffenen liegt bei 40 bis 50%, da zu der Unempfindlichkeit gegen β -Laktam-Antibiotika häufig eine Ko-Resistenz gegen weitere Antibiotika-Klassen hinzukommt. Eine schnelle und spezifische Diagnose kann unter Umständen lebensrettend sein und eine weitere Ausbreitung verhindern. Bisherige Tests weisen jedoch nur wenige Carbapenemase nach. Mit dem Line-Probe-Assay, den die AID Diagnostika GmbH für den Nachweis von Carbapenemase-Genen entwickelt hat, lässt sich hingegen nach eigenen Angaben mit nur einem Test eine Vielzahl häufiger Gene, die für Carbapenemase kodieren, identifizieren.

Drei molekulare Klassen von Carbapenemase sind derzeit bekannt: Penicillinasen (Klasse A), Metallo- β -Laktamasen (Klasse B) und Oxacillinasen (Klasse D). Bei Enterobacteriaceae sind KPC-Enzyme (Klasse A) die derzeit vorherrschenden Carbapenemase. Zur Klasse A gehören auch die Carbapenemase IMI/NMC-A und BIC, die beide chromosomal codiert sind. Metallo- β -Laktamasen (Klasse B) unterscheiden sich biochemisch stark von KPC und schließen die häufig vorkommenden Enzym-Familien IMP,



Einsatz Test-Kit
© AID Diagnostika GmbH

VIM und Neu Delhi Metallo (NDM) ein. Eine größere Rolle spielen allerdings VIM Carbapenemase, die sich schnell in Enterobacteriaceae, vor allem in *Klebsiella pneumoniae*, verbreitet haben. NDM, die wohl am häufigsten publizierten Metallo- β -Laktamasen, stammen aus Indien und haben sich durch Reisende oder Patienten, die auf dem indischen Subkontinent behandelt worden sind, auch auf Europa, Asien, Nordamerika und Australasien ausgeweitet. Wie bei VIM findet die Übertragung hauptsächlich durch Plasmid-Transfer statt. Weitere Mitglieder der Klasse B sind AIM, DIM, GIM, SIM und SPM. Zu Klasse D gehört die letzte Carbapenemase bei Enterobacteriaceae, nämlich OXA-48.

Konventionelle Nachweismethoden sind allerdings zeitaufwändig und häufig unspezifisch beziehungsweise

nicht für alle Spezies geeignet. Besonders schwierig ist der gleichzeitige Nachweis von ESBL-Bildnern und AmpC- β -Laktamasen sowie die Differenzierung klinisch relevanter Carbapenemase. Der genotypische Nachweis liefert zwar präzise und sichere Ergebnisse innerhalb kurzer Zeit, mit den bisher verfügbaren kommerziellen Tests waren jedoch nur wenige Carbapenemase nachweisbar. Deshalb hat die AID Diagnostika GmbH, basierend auf epidemiologischen Analysen und der Häufigkeit des Auftretens, einen Test für die wichtigsten 13 Carbapenemase-Gene entwickelt. Mit dem Kit lassen sich AIM, BIC, DIM, GIM, IMI, IMP, KPC, NDM-1, NMC-A, OXA-48, SIM, SPM und VIM zuverlässig detektieren. Die Testdurchführung und die elektronische Auswertung mit dem AID Scannersystem nimmt von

der Probennahme bis zum Ergebnis etwa fünf Stunden in Anspruch. Die Interpretation erfolgt mit Hilfe einer spezifischen Software, die die Ergebnisse einfach und übersichtlich darstellt. So können die verschiedenen Resistenzmechanismen aufgezeigt werden und ein gezielter Antibiotika-Einsatz wird möglich, was einer weiteren Vermehrung der Resistenzen entgegenwirkt.

Das Testverfahren von AID beruht auf der Methode der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit anschließender Hybridisierung. Dabei werden die biotinylierten Amplifikate denaturiert und an die auf dem Nitrocellulose-Streifen aufgebracht, sequenzspezifischen Sonden (Oligonukleotide) gebunden. Anschließend gewährleisten verschiedene Waschschriffe, dass die Bindung nur erhalten bleibt, wenn die Sequenz der Sonde zu 100% mit der des Amplifikats komplementär ist. Das Ergebnis wird mit dem AID Scannersystem ausgewertet. Der Line-Probe-Assay wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich erfolgreich auf seine Aussagefähigkeit hin untersucht. Dabei wurde insbesondere der Nutzen zur schnellen Detektion von Carbapenemase-Genen in 151 klinischen Bakterienstämmen ausgewertet. Zuvor wurden diese Stämme phäno- und genotypisch charakterisiert, wobei 113 Stämme, die keine Carbapenemase produzieren, dazu dienten, die Möglichkeit falsch positiver Signale zu evaluieren. Das Ergebnis der Studie belegt die Sensitivität und Spezifität des Tests, da alle Zuordnungen zu 100% korrekt waren. Die Handhabung erwies sich als schnell und einfach, zumal keine größeren Investitionen für besondere Geräte notwendig waren. ■

Weitere
Informationen
unter
www.aid-diagnostika.com

