

Die mikrobiologische Diagnostik : immer schneller

S. Emonet, M. Eyer, L. Tissières Lovey, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

Die grossartige Entwicklung der Medizin mit den Möglichkeiten der Transplantation, der Chemotherapie und der Immuntherapie hat dazu geführt, dass unsere Patienten anfälliger für Infektionen geworden sind. Während langer Zeit konnten wir unsere Patienten mit Breitbandantibiotika behandeln, ohne das Risiko einzugehen, «die Zielgruppe zu verfehlen», und anschliessend unsere Behandlung an die Ergebnisse der mikrobiologischen Analyse anpassen, sobald diese endlich verfügbar waren.

Das Auftreten und die rasche Verbreitung von multiresistenten Krankheitserregern (MDR), parallel zum fehlenden kommerziellen Interesse zur Entwicklung neuer Antibiotika, verunmöglicht die Weiterführung dieses Ansatzes. Um ein Zeitalter der «Post-Antibiotika» in der Medizin zu verhindern, sind im Verlauf der letzten zehn Jahre in den Spitälern intensiv Programme für das Management der Antibiotika («antimicrobial stewardship» - AMS) entwickelt worden. Um eine gezielte Behandlung auszuwählen, benötigt der Kliniker jedoch eine rasche und zuverlässige mikrobiologische Diagnostik.

Leider sind die Bakterien Lebewesen, die 24 bis 72 Stunden benötigen, um auf dem Blutagar zu wachsen. Ein zusätzlicher Tag war für die Bestimmung auf der Grundlage des Zuckerkonsums und der vom Bakterium produzierten Enzyme nötig. Das Antibiogramm, das üblicherweise benutzt wird, damit die Bakterien in Anwesenheit verschiedener Antibiotika in unterschiedlichen Konzentrationen wachsen, benötigt zusätzlich noch 16-24 Stunden. Insgesamt sind vor 10 Jahren noch 3 bis 6 Tage zwischen der Entnahme und der Antwort «einsetzbar» an den Arzt vergangen. Ein für das AMS inakzeptabler Zeitraum, denn dadurch ist der Arzt gezwungen, «blind» eine Behandlung mit Breitbandantibiotika zu beginnen.

Glücklicherweise hat die mikrobiologische Diagnostik im Verlauf der letzten zehn Jahre mit dem Aufkommen der Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) [2] eine richtige molekulare Revolution durchgemacht. Sie ermöglicht den Nachweis eines Bakteriums in einer Kultur innerhalb von 1-2 Minuten (früher 24-48 Stunden). Zudem erfolgt dank der Vereinfachung der Werkzeuge für den bakteriellen und viralen DNA-Nachweis mittels PCR eine mikrobiologische Diagnostik im Allgemeinen 1-2 Stunden nach der Entnahme, da der Transport ins Labor und die Zeit für die Kultur entfallen. Die Automatisierung der Kulturen, welche in der Schweiz erst seit knapp 1-2 Jahren eingesetzt wird, ermöglicht den laufenden Nachweis der positiven Kulturen mit einem potenziellen Zeitgewinn von zusätzlichen 24 Stunden für die Bekanntgabe der Ergebnisse [3].

Die Automatisierung der Kulturen in der Bakteriologie: wovon spricht man?

Bis vor kurzem war die Automatisierung für die Chemie, die Hämatologie und die Immunologie (Serologie) «reserviert». In diesen Bereichen variiert die Art der Proben nur geringfügig (Blut, Urin, Körperflüssigkeiten) und die für die Analyse notwendigen Verfahren eigneten sich einfacher für eine Standardisierung. In der Bakteriologie geht es um Entnahmen jeglicher Art. Es handelt sich sowohl um Flüssigkeiten als auch um Feststoffe, die aus den verschiedensten Körperteilen stammen. Hier müssen Lebewesen wachsen, die je nach Art des gesuchten Keims unterschiedliche Medien und Kulturvoraussetzungen erfordern. Schliesslich braucht es eine sehr spezifische menschliche Expertise, um die Kolonien auszuwählen, welche mittels MALDI-TOF MS zu identifizieren sind, wobei auf den Petrischalen oft auch noch ein Medium mit kommensaler Flora vorhanden ist. Es ist deshalb verständlich, dass es schwierig ist, die Bakteriologie zu automatisieren.

Trotzdem ist die Automatisierung des Ansetzens der Entnahmen dank des Transfers der «komplizierteren» Entnahmen in geeignete Röhrrchen nach der Erstversorgung (Ultraschallintegration für die Prothesen, Homogenisieren der Biopsien, ...) zu einer Realität geworden. Seit einem Jahr ergänzt der Transfer der angesetzten Schalen in «intelligente» Inkubatoren, welche zu bestimmten Inkubationszeiten Fotos aufnehmen, dieses Angebot. Es ist jetzt also möglich, das Wachstum laufend zu überwachen. Eine am Vormittag angesetzte Entnahme, die vom «intelligenten» Inkubator am Nachmittag als positiv identifiziert worden

ist, kann so am gleichen Tag übernommen werden (MALDI-TOF MS zum Nachweis und zum Start des Antibiogramms)!

Dank der Automatisierung, wie sie heute im ZIS eingesetzt wird, ist es also möglich, für klassische Keime (Enterobakterien, Staphylokokken, Streptokokken) am gleichen Tag den Nachweis und am folgenden Tag das Ergebnis des Antibiogramms zu erhalten³. Die Zeit zwischen Entnahme und Endergebnis beträgt also gegenüber 3-6 Tagen vor rund zehn Jahren heute nur noch 24-48 Stunden! Dieser Zeitgewinn in der bakteriologischen Diagnostik wirkt sich mit der Förderung von AMS [4] nicht nur auf die Infektionsbehandlung bei unseren Patienten, sondern ebenfalls auf die Infektionskontrolle aus.

In Zukunft kann man von diesen «intelligenten Inkubatoren» erwarten, dass sie eine morphologische Vorbestimmung der auf den Schalen vorhandenen Kolonien ermöglichen (gegenwärtig rein menschliche Expertise) und dass dieselben automatisierten Verfahren auf die Realisierung des Antibiogramms angewendet werden [5].



Abbildung 1: Positive Schalen, präsentiert vom «intelligenten» Inkubator

Schlussfolgerung

Mit der Vereinfachung der Instrumente PCR und der Automatisierung der Kultur ist die Mikrobiologie einer der diagnostischen Bereiche, welcher sich in den vergangenen 10 Jahren am schnellsten entwickelt hat. Das ZIS bietet den Haus- und Spitalärzten unserer Region eine rasche mikrobiologische Diagnostik auf dem neusten Stand der Entwicklung an, die es ihnen ermöglicht, den Einsatz von Breitbandantibiotika zu beschränken und die Entwicklung und Ausbreitung von multiresistenten Bakterien in unserem Kanton und in unseren Spitälern zu verhindern.

Literatur

- [1] Dyar OJ, Huttner B, Schouten J, Pulcini C, Esgap. What is antimicrobial stewardship? Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2017;23:793-8.
- [2] Emonet S, Shah HN, Cherkaoui A, Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2010;16:1604-13.
- [3] Cherkaoui A, Renzi G, Vuilleumier N, Schrenzel J. Copan WASPLab automation significantly reduces incubation times and allows earlier culture readings. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2019;25:1430 e5- e12.
- [4] Emonet S, Charles PG, Harbarth S, et al. Rapid molecular determination of methicillin resistance in staphylococcal bacteraemia improves early targeted antibiotic prescribing: a randomized clinical trial. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2016;22:946 e9- e15.
- [5] Cherkaoui A, Renzi G, Fischer A, et al. Comparison of the Copan WASPLab incorporating the BioRad expert system against the SIRscan 2000 automatic for routine antimicrobial disk diffusion susceptibility testing. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2019.

Kontaktperson

Dr. med. Stéphane Emonet

stephane.emonet@hopitalvs.ch