

Antibiotika und resistente Bakterien

(Ein Informationstext der Firma LABORS.AT, zusammengefasst von H. Paukert)

Antibiotika werden seit Jahrzehnten zur Behandlung von Infektionserkrankungen eingesetzt und gehören zu den größten Errungenschaften der Medizin.

Entgegen der allgemeinen Auffassung war es nicht A. Fleming, der 1928 die antibakterielle Wirkung von Schimmelpilzen erstmals beschrieben hat, sondern diese Entdeckung ist B. Gosio und E. Duchesne zuzuschreiben, die ähnliche Beobachtungen bereits im 19. Jahrhundert publiziert haben. Der erste Einsatz eines antimikrobiellen Wirkstoffes geht auf P. Ehrlich zurück, der 1910 die Wirksamkeit von Arsphenamin zur Behandlung der Syphilis beschrieb. Im Jahr 1935 entdeckte G. Domagk die antimikrobielle Aktivität des Sulfonamid-Farbstoffes Prontosil.

1942 begann mit Penicillin der endgültige Durchbruch der antibiotischen Therapie, dem in den folgenden Jahren Wirkstoffe wie Streptomycin, Chloramphenicol und Tetrazyclin folgten. Heute sind von tausenden antimikrobiellen Wirkstoffen ca. 100 im therapeutischen Einsatz.

Dank verbesserter Hygienebedingungen und des Einsatzes von Antibiotika haben bakterielle Infektionskrankheiten wie Lues oder Tuberkulose in den Industriestaaten ihren Schrecken verloren. Millionen von Menschen verdanken diesen Medikamenten ihre Gesundheit.

WAS SIND ANTIBIOTIKA UND WIE WIRKEN DIESE ?

Strikt definiert sind Antibiotika von Pilzen oder Bakterien gebildete Stoffwechselprodukte, die das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmen oder diese sogar abtöten. Klassische Antibiotika, wie Penicillin, Tetracyclin oder Streptomycin sind somit Naturprodukte.

Im medizinischen Sprachgebrauch werden allerdings auch synthetisch gewonnene Chemotherapeutika mit antimikrobieller Wirkung als Antibiotika bezeichnet. Wenn auch der Begriff Antibiotika für Wirkstoffe, die gegen bakterielle Infektionserkrankungen eingesetzt werden können, im deutschen Sprachbereich unverändert üblich ist, werden zunehmend auch Begriffe, wie Antiinfektiva oder Infektionsheilmittel verwendet.

Vom Begriff „Antibiotikum“ sind die Wirkstoffe gegen Pilze (Antimykotika) und gegen Viren (Virustatika) abzugrenzen.

Antibiotika können das Wachstum von Bakterien auf verschiedene Weise beeinflussen. Es kann zur Bakteriostase (Hemmung der Bakterienvermehrung, z. B. durch Sulfonamide oder Tetracycline) oder zur Bakterizidie (Abtötung der Bakterienzelle, z. B. durch Penicilline oder Aminoglykoside) kommen. Je nach Wirkstoffgruppe kann diese Bakterizidie entweder nur in der Wachstumsphase (Penicilline) oder auch in der Ruhephase (Aminoglykoside) erfolgen.

Darüber hinaus ist die Bakterizidie auch konzentrationsabhängig. Auf Basis des Wirkungsmechanismus ist eine Einteilung von Antibiotika möglich. Die wichtigsten Angriffspunkte sind dabei die Bakterienzellwand, die Ribosomen, die Nukleinsäuren und die Zellmembranen.

DER UNKRITISCHE EINSATZ VON ANTIBIOTIKA IN DER MEDIZIN

Die Entwicklung der modernen Medizin, wie z.B. die Transplantationschirurgie, die onkologische Chemotherapie oder die Intensivmedizin, wäre ohne Antibiotika nicht vorstellbar. Antibiotika sind hochwirksame Medikamente, die in kritischen Situationen lebensrettend wirken. Sie sollten mit entsprechender Sorgfalt und unter Berücksichtigung des aktuellen medizinischen Wissensstandes eingesetzt werden.

Der breite, viel zu häufige und unkritische Einsatz gibt Bakterien die Möglichkeit Abwehrmechanismen gegen Antibiotika, sog. Antibiotikaresistenzen, zu entwickeln. Weltweit wird eine Zunahme dieser Resistenzen beobachtet. Infektionen mit gegen mehrere Antibiotika resistente Bakterien (multiresistente Erreger, MRE) entwickeln sich zunehmend zu einem Gesundheitsproblem für Mensch und Tier.

Beispiele für einen medizinisch nicht sinnvollen, aber immer wieder beobachteten Einsatz von Antibiotika sind:

- » Behandlung viraler Infekte mit Antibiotika, obwohl Antibiotika bei Viren unwirksam sind
- » Viel zu häufiger Einsatz von Wirkstoffen mit sehr breiten Wirkungsspektrum
- » Nicht indizierte oder zu lange prophylaktische Verabreichung (im chirurgischen Bereich)
- » Behandlung von „Keimen statt Infektionen“ (z.B. *Staphylococcus aureus*-Kolonisation)
- » Der Einsatz von Antibiotika in der gewerblichen Tierzucht

Studien zeigen, dass das Risiko an einer Infektion mit einem bestimmten Keim zu versterben wesentlich höher ist, wenn er multiresistent ist, d.h. wenn er Resistenzen gegenüber zahlreichen Antibiotika aufweist, als wenn er gegenüber Antibiotika empfindlich ist.

Es gibt Schätzungen, wonach sich die Zahl der weltweit durch multiresistente Bakterien verursachten Todesfälle von derzeit etwa 700.000 jährlich bis zum Jahr 2050 auf zehn Millionen erhöhen könnte, wenn keinerlei Gegenmaßnahmen getroffen werden. Für Europa würde dies einen Anstieg von jetzt etwa 23.000 auf 400.000 Tote bedeuten. Damit würden dann mehr Menschen an multiresistenten Keimen sterben als an Krebs.

Der zurückhaltende und gezielte Einsatz von Antibiotika und der richtige Umgang mit Patienten, die eine Besiedelung bzw. Infektion mit antibiotikaresistenten Bakterien aufweisen, sind unbedingte Notwendigkeiten um eine drohende Katastrophe, nämlich den Verlust der Wirksamkeit einer der wichtigsten Medikamentengruppe, abzuwenden.

WAS SIND BAKTERIEN UND WO KOMMEN SIE VOR ?

Bakterien sind einzellige mikroskopisch kleine Organismen (mit Durchmesser zwischen 0,002 - 0,02 mm) und zeigen einen für Prokaryonten (zelluläre Lebewesen, die keinen Zellkern besitzen) charakteristischen Zellaufbau. Als Grundformen lassen sich Kokken, Stäbchen und schraubenförmige Bakterien beschreiben.

Die Zellhülle der Bakterien besteht aus der Zytoplasma-Membran und der Zellwand, die Mitochondrien und das endoplasmatische Retikulum fehlen.

Bakterien unterscheiden sich durch ihre unterschiedliche Anfärbbarkeit mit bestimmten Farbstoffen. Sogenannte Gramfärbungen z. B. von bakterienhaltigen Abstrichen können im mikrobiologischen Labor rasch durchgeführt werden. Infektionen mit gramnegativen und grampositiven Bakterien werden oft mit unterschiedlichen Antibiotika behandelt. Das Ergebnis der Gramfärbung kann zur Entscheidung für eine bestimmte Antibiotikatherapie herangezogen werden, ohne dass der Arzt das Ergebnis der mindestens 24 Stunden dauernden Keimidentifizierung mittels kultureller Erregeranzucht abwarten muss.

Bei allen Gram-positiven Bakterien besteht ihre Zellwand aus einem vielschichtigen Murein-Sack und Lipoteichon-Säure, während bei Gram-negativen Bakterien nur eine oder wenige Murein-Schichten vorhanden sind, welchen eine äußere Membran mit Porinen und Lipo-Polysacchariden aufgelagert ist. Letztgenannte besitzen eine Reihe von biologischen Eigenschaften, die zur Entstehung eines septischen Schocks führen können.

Säurefeste Bakterien (z.B. Mykobakterien) besitzen Wachse in der Zellhülle. Weitere Zellwandbestandteile sind Kapseln, Geißeln (Flagellen), Pili, Fimbrien und Sekretionssysteme.

Es gibt aber auch zellwandlose Formen (z.B. Mykoplasmen) sowie Sporen (Dauerformen mit herabgesetztem Stoffwechsel) - bildende Bakterien (aerob: verschiedene Bacillus Arten und anaerob: verschiedene Clostridium Arten).

Die Bakterienvermehrung erfolgt durch Zweiteilung. Die durchschnittliche Verdopplungszeit schwankt je nach Wachstumsbedingungen und Bakterienspezies zwischen 15 Minuten (Staphylokokken, Enterobakterien) und mehreren Stunden bis Tagen (Mykobakterien). Auf diese Weise können im Falle von schnell wachsenden Bakterien aus einer einzelnen Zelle innerhalb von 24 Stunden Milliarden von Bakterien entstehen.

Bakterien kommen überall (ubiquitär), sowohl in der belebten als auch der unbelebten Umwelt vor, wobei auch extreme Bedingungen (hohe Temperaturen, radioaktive Strahlung, u.a.) von manchen Arten problemlos toleriert werden.

Unter dem Begriff Bakterienflora versteht man die Gesamtheit der einen bestimmten Lebensraum (z.B. den Menschen) besiedelnden Bakterien. Von medizinischem Interesse sind nicht nur krankmachende (pathogene) Bakterien, sondern auch jene die nicht schädlich oder sogar nützlich sind und innere sowie äußere Körperoberflächen besiedeln. Diese früher als Normalflora und heute als Mikrobiom bezeichneten Bakteriengemeinschaften sind in den letzten Jahren Gegenstand intensiver Forschung geworden.

IN WELCHER FORM LIEGT DIE ERBSUBSTANZ (DNA) BEI BAKTERIEN VOR?

Im Gegensatz zu den Eukaryonten, die einen Zellkern aufweisen, liegt in Bakterien die Erbsubstanz (Bakterienchromosom) als zirkuläre oder lineare doppel-strängige DNA (Desoxyribonucleic acid) ohne Kernmembran im Zytoplasma (Kernäquivalent, Nukleoid) vor. Die Größe kann sehr variabel sein und schwankt zwischen 1.000 kbp (Kilobasenpaare) bei Mykoplasmen und ca. 6.000 kbp bei Escherichia coli.

Viele Bakterien enthalten auch Plasmide, das sind zirkulär-doppelsträngige DNA-Moleküle, deren Größe und Anzahl sehr unterschiedlich sein kann. Die Vermehrung der Plasmide funktioniert unabhängig von der chromosomalen DNA. Bei der Zellteilung werden die vorhandenen Plasmide mit dem Zytoplasma zufällig auf die Tochterzellen verteilt.

Plasmide sind für das Überleben der Bakterien normalerweise nicht erforderlich, jedoch können sie diesen unter ungünstigen Umgebungsbedingungen einen Selektionsvorteil gegenüber Plasmid-freien Bakterien verleihen.

Plasmidgene können nämlich durch ihre Genprodukte unter anderem für die Resistenz gegen Antibiotika, die Produktion von Toxinen (Giftstoffe) und Virulenzfaktoren (bakterielle Eigenschaften, die ihre krankmachende Wirkung bestimmen) und für die Fähigkeit unter ungewöhnlichen Umgebungsbedingungen zu überleben und zu wachsen, verantwortlich sein.

Im Zusammenhang mit der Resistenzübertragung sind auch die Transposons (mobile genetische Elemente), die zwischen DNA-Molekülen (z.B. Plasmid und Bakterienchromosom) „springen“, von Bedeutung.

Körpereigene Bakterienflora des Menschen:

Körperregion	Standortflora (kultureller Nachweis)
Gewebe, Liquor, Blase, Uterus, Tuben, Mittelohr, Nasennebenhöhlen	steril
Haut, unteres Ende der Harnröhre, äußerer Gehörgang, vordere Nasenhöhle	Propionibakterien, koagulasenegative Staphylokokken, Korynebakterien
Mund (Zungen- und Wangenschleimhaut)	vergrünende Streptokokken, Neisserien, Moraxella, Hefen
Zahnfleisch, Tonsillenkrypten	Bacteroides, Fusobakterien, Peptostreptokokken, Aktinomyzeten, Spirochäten
Nasen-, Rachenraum	Mundhöhlenflora; evtl.: Streptococcus pneumoniae, Haemophilus, Neisseria meningitidis, Anaerobier, Moraxellen
Ösophagus	Mundhöhlenflora nach Mahlzeiten
Magen	Mundhöhlenflora nach Mahlzeiten
Dünndarm	Oberer Abschnitt steril, unterer Abschnitt Dickdarmflora
Dickdarm	Bacteroides, Eubakterien, anaerobe Kokken, Bifidobakterien, Clostridien, Laktobazillen, Enterokokken, Enterobakterien
Dickdarm während der Stillperiode	Bifidobakterien, Laktobazillen, vergrünende Streptokokken
Vagina pubertär und postmenopausal	Haut- und Dickdarmflora
Vagina im fortpflanzungsfähigen Alter	Laktobazillen, β -hämolyisierende Streptokokken, Hefen, Gardnerella vaginalis, verschiedene Mobiluncus Arten, koagulasenegative Staphylokokken

WAS VERSTEHT MAN UNTER DEM BEGRIFF „MIKROBIOM“ ?

Der Begriff Mikrobiom bezeichnet die Gesamtheit aller mikrobiellen Gene im menschlichen Organismus, wird aber in weiterem Sinne auch als die Gesamtheit aller den Menschen besiedelnden Mikroorganismen verstanden. Unser Organismus dient Milliarden von Bakterien, Pilzen, Parasiten und Viren als Lebensraum.

Mittlerweile bezeichnet man das Mikrobiom als ein eigenständiges Organ, das ein Gewicht von bis zu 1,5 kg aufweist. Schätzungsweise kommen auf eine humane Zelle 10 bis 100 mikrobielle Zellen. Der Mensch besteht daher, was die Anzahl der Zellen betrifft, nur zu maximal 10 % „aus Mensch“. Man ging lange Zeit davon aus, dass etwa 1.000 Bakterienarten den erwachsenen Menschen besiedeln, wobei sich diese überwiegend im Magendarmtrakt finden.

Basierend auf Untersuchungen mit modernen DNA-Sequenziermethoden geht man heute von einem wesentlich größeren Artenreichtum aus und es gibt Vermutungen, dass mehr als 10.000 verschiedene Arten von Bakterien das Mikrobiom des Menschen prägen. Diese besitzen etwa 8 Millionen Gene, die grundsätzlich in ein Protein übersetzt werden können. Der Mensch selbst besitzt nur etwas mehr als 20.000 Proteine.

Diese Besiedelung mit Mikroorganismen hat sehr oft den Charakter einer mutualistisch-symbiotischen Beziehung. Darunter versteht man das Zusammenleben von Individuen unterschiedlicher Art, das für beide Partner vorteilhaft ist. Menschliche und auch tierische Organismen stellen für Bakterien besonders günstige Lebensbedingungen (konstante Temperatur, Feuchtigkeit und ausreichend Nährstoffe) zur Verfügung.

Neben dem Magendarmtrakt sind auch die äußere Haut sowie die Schleimhäute des Mund-Rachen-Raumes, der oberen Atemwege und der unteren ableitenden Harnwege, sowie der Geschlechtsorgane von einer Bakterienflora besiedelt, deren Zusammensetzung von Mensch zu Mensch nur geringfügig schwankt.

Das Mikrobiom stellt einen Teil des menschlichen Stoffwechselsystems dar und beeinflusst die Entstehung verschiedener Erkrankungen. Mittlerweile gibt es zahlreiche Studien die zeigen, dass stoffwechselbedingte (Fettleibigkeit, Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörungen, Herz-Kreislauf- und Gefäßerkrankungen) und das Immunsystem betreffende (entzündliche Darmerkrankungen, Psoriasis, Asthma, Allergien) Erkrankungen sowie auch Funktionen im Bereich des Nervensystems („Darm-Gehirn-Achse“, Verhaltensfunktionen) durch das Mikrobiom wesentlich beeinflusst werden können. Auch ist der Einfluss des Mikrobioms auf Krebserkrankungen des Darms Gegenstand zahlreicher Studien.

Die Verabreichung eines „gesunden“ Mikrobioms hat sich in Form der Stuhl-Mikrobiom-Transplantation bei schweren Darminfektionen (komplizierte Clostridium-Infektion und pseudomembranöse Colitis) als ein wirksames Therapiekonzept erwiesen. Über die Langzeitauswirkungen dieser Stuhltransplantation gibt es im Moment noch keine Daten.

Wie schon lange bekannt, ist das Mikrobiom auch eine Quelle endogener (von der eigenen Bakterienbesiedelung ausgehend) Infektionen wie beispielsweise der häufig vorwiegend bei Frauen vorkommenden Harnwegsinfektion. Auch die Mehrzahl der im Krankenhaus erworbenen Infektionen ist endogenen Ursprungs.

WIE WERDEN ERREGERNACHWEISE IM LABOR DURCHGEFÜHRT ?

Viele Bakterienarten weisen ein sehr hohes Vermehrungspotential auf. Dieses enorm rasche Wachstum ist die Grundlage des kulturellen Erregernachweises aus Materialien wie Abstrichen, Harn oder Stuhl.

Bakterien gewinnen die zum Leben notwendige Energie durch den Abbau organischen Materials, zumeist von Kohlenhydraten. Dabei unterscheidet man zwischen aerober (Atmung oder respiratorischer Stoffwechsel; Sauerstoff als finaler Elektronenakzeptor) und anaerober (Gärung oder fermentativer Stoffwechsel; organische Stoffe als Elektronenakzeptoren) Energiegewinnung.

Auch die zum Wachstum benötigten atmosphärischen Bedingungen, z.B. aerob (in der Anwesenheit von Sauerstoff), anaerob (in der Abwesenheit von Sauerstoff) oder mikroaerob (in der Anwesenheit nur geringer Mengen von Sauerstoff) kennzeichnen Bakterienarten und sind somit ebenfalls wichtige Unterscheidungsmerkmale.

Bakterien sind heterotroph, d. h. sie benötigen die Zufuhr bestimmter organischer Stoffe um sich vermehren zu können. Fehlen diese Stoffe in ihrem Umfeld funktioniert der lebensnotwendige Bakterieneigene Syntheseparat nicht.

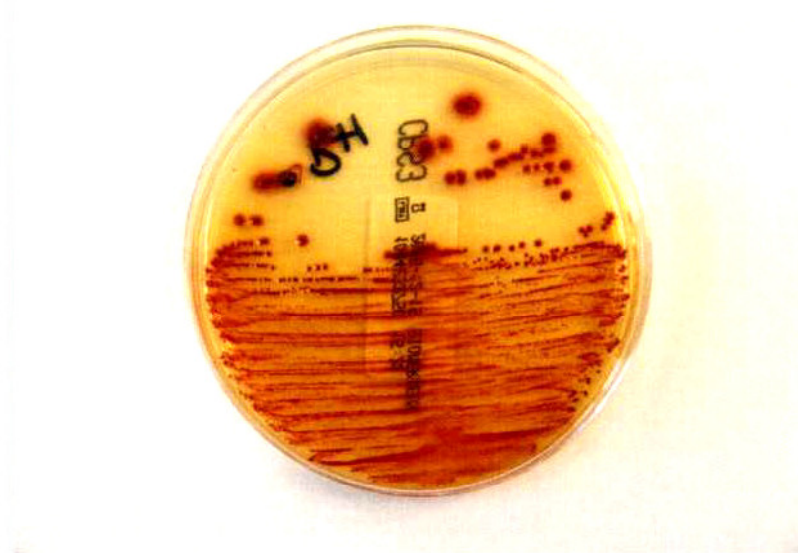
Die Bedingungen (Zusammensetzung von Nährböden, Gestaltung der umgebenden Atmosphäre) unter denen im mikrobiologischen Labor Bakterien kultiviert werden, können variiert werden. Eine Differenzierung unterschiedlicher Bakterienarten erfolgt unter anderem durch ihre Vermehrungsfähigkeit unter unterschiedlichen Kulturbedingungen.

Im Folgenden wird beispielhaft der Nachweis des Bakterium **Escherichia coli** als Erreger eines Harnwegsinfektes dargestellt.



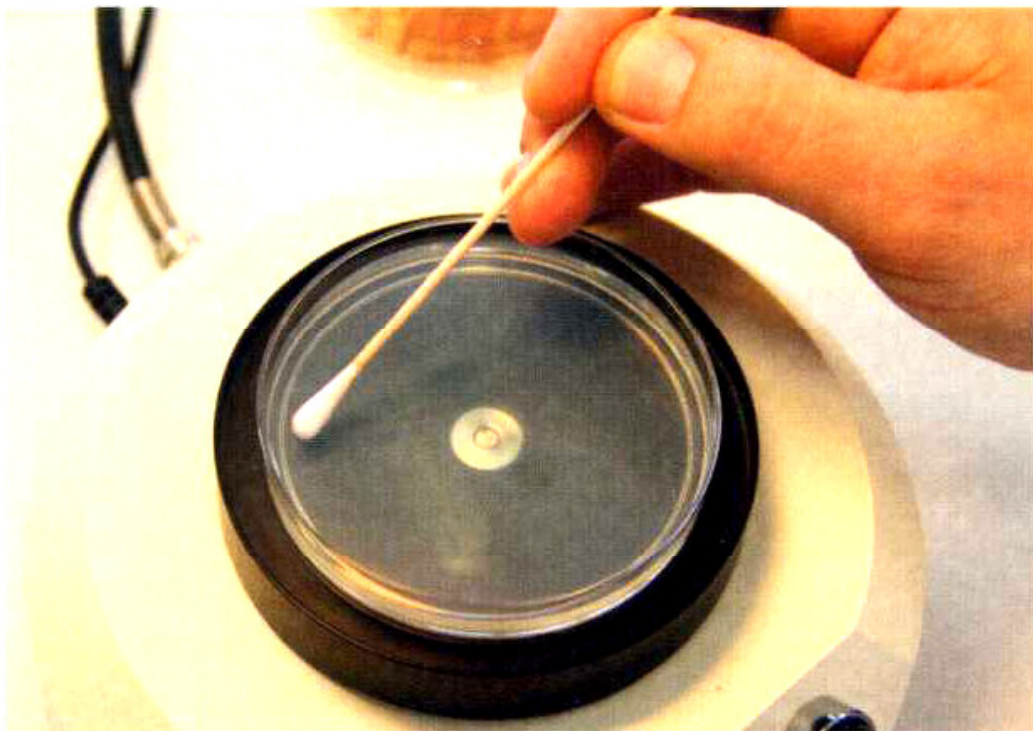
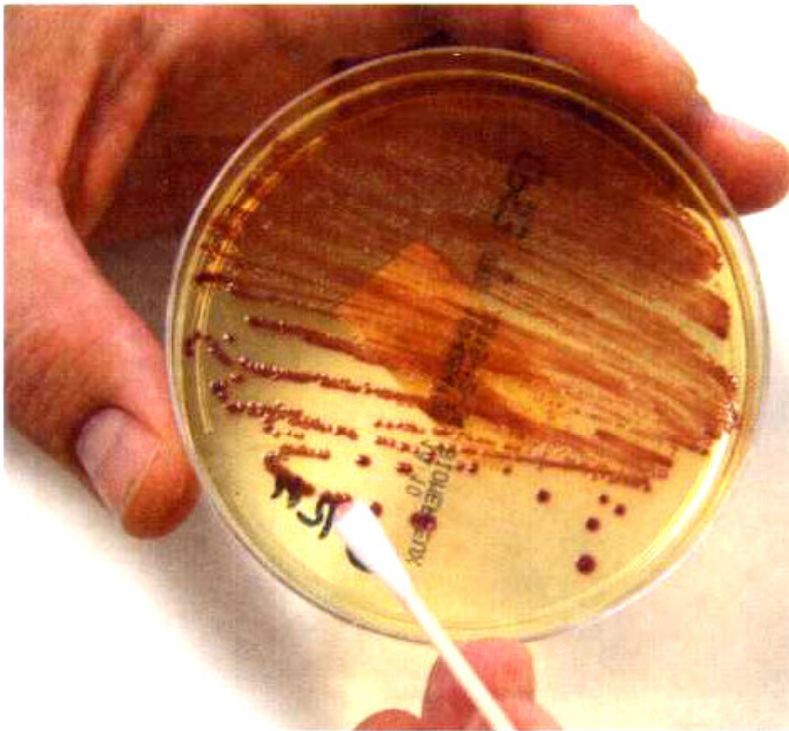
Nativer (unbearbeiteter) Harn eines Patienten mit einer Harnwegsinfektion wird mit einer kalibrierten Öse auf einen sog. Indikator Nährboden verteilt. Der Nährboden ist so zusammengesetzt, dass Keime, die häufig Harnwegsinfekte verursachen, in charakteristisch gefärbten Kolonien erscheinen.

Abbildung [1]



Nach Bebrütung des Nährbodens über Nacht unter standardisierten Bedingungen im Inkubator zeigt sich im vorliegenden Fall bakterielles Wachstum in Form braun-violett gefärbter Kolonien von *Escherichia coli*, dem häufigsten Erreger von Harnwegsinfektionen. Die hohe Koloniezahl auf der Primärplatte spricht zusammen mit dem fehlenden Nachweis anderer Bakterien dafür, dass dieser Erreger der Verursacher der Harnwegsinfektion ist.

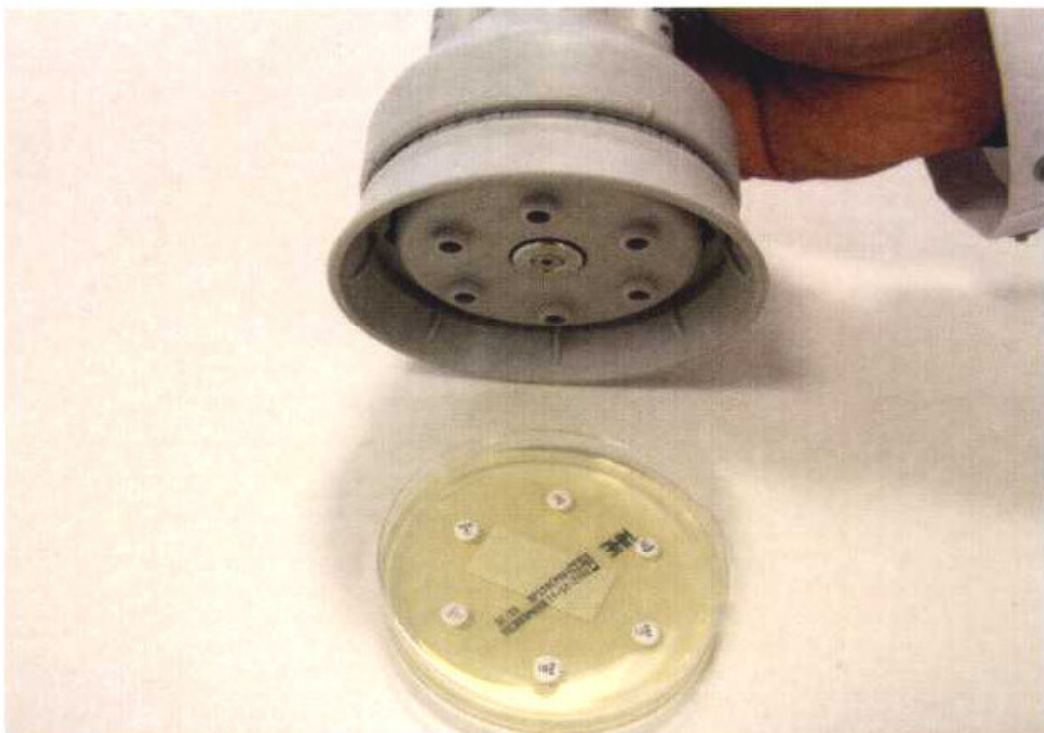
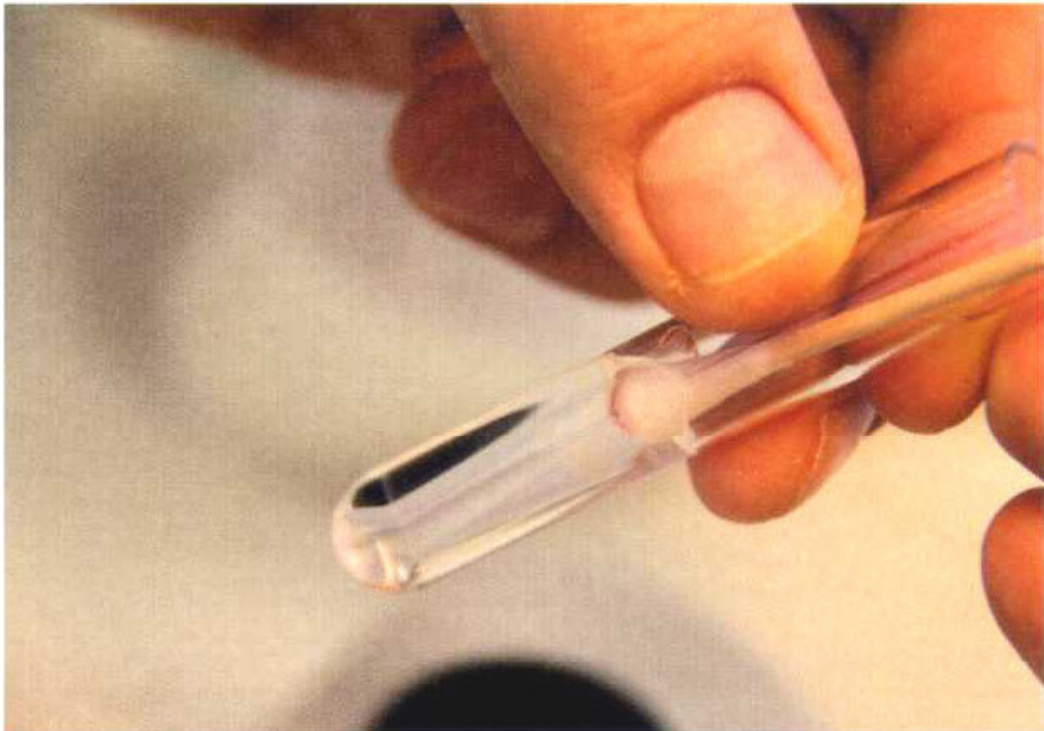
Abbildung [2]



oben: Entnahme von Bakterien aus der ersten Kulturplatte

unten: Verteilen der Bakteriensuspension auf einem Universalnährboden

Abbildungen [3] und [4]



oben: Herstellung einer standardisierten Bakterien-Suspension

unten: Aufbringen Antibiotikum-haltiger Blättchen auf den mit der Bakteriensuspension bestrichenen Nährboden

Abbildungen [5] und [6]



Während einer 16–20 stündigen Inkubation in einem Brutschrank diffundieren die Antibiotika in das Nährmedium und verhindern im Umkreis der Antibiotika-Blättchen das Keimwachstum, wenn der Erreger gegenüber dem jeweiligen Antibiotikum empfindlich ist. Es entsteht ein Hemmhof um das aufgelegte Antibiotikumblättchen. Der Vergleich von Hemmhofdurchmessern mit den klinischen Grenzwerten des Europäischen Komitees für Antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung (EUCAST) zeigt die Empfindlichkeit des vorliegenden Erregers. Im oben dargestellten Beispiel ist der Erreger gegen alle getesteten Antibiotika empfindlich.

Abbildung [7]

Die Größe der **Hemmhöfe** wird zur Beurteilung der Empfindlichkeit des untersuchten Erregers gegenüber Antibiotika herangezogen.

Die mittels der oben beschriebenen Resistenzprüfung erhobenen Resultate werden im mikrobiologischen Antibiogramm zusammengefasst.

WAS SIND ANTIBIOTIKA-RESISTENZEN UND WIE ENTSTEHEN DIESE ?

Die Resistenz von Bakterien gegen Antibiotika kann ein natürliches Phänomen aufgrund einer stets vorhandenen genetisch bedingten Unempfindlichkeit gegen ein bestimmtes Antibiotikum darstellen.

Als mögliche Ursachen kommen das Fehlen der erforderlichen Zielstruktur des Antibiotikums oder Eigenschaften der Zellwand, die ein Antibiotikum am Erreichen der Zielstruktur hindern, in Betracht. Diese Art der Resistenz bezeichnet man auch als natürliche oder primäre Resistenz. Beispiele dafür sind die Resistenz von Enterokokken gegenüber Cephalosporinen, von den verschiedenen Klebsiella-Arten gegenüber Aminopenicillinen, oder von den verschiedenen Pseudomonas-Arten gegenüber Tetracyclinen.

Darüber hinaus lässt sich eine erworbene oder sekundäre Resistenz, der im Wesentlichen zwei genetische Mechanismen zugrunde liegen, beschreiben:

» Mutation eines Gens, welches in den Wirkungsmechanismus eines Antibiotikums involviert ist. In einer Bakterienpopulation entstehen Mutationen natürlicherweise und rein zufällig mit einer Häufigkeit von 10^{-6} bis 10^{-8} .

» Aufnahme von Resistenzgenen von anderen Bakterien: Diese ist durch Transformation (Aufnahme freier DNA aus der Umgebung), Transduktion (Übertragung von DNA durch Bakterienviren) oder durch Konjugation (Kontakt zwischen Bakterien mittels Sexpili mit nachfolgender Übertragung von zumeist Plasmid-gebundenen Resistenzgenen) möglich.

Aus biochemischer Sicht entstehen Resistenzen durch:

» Produktion Antibiotika-inaktivierender Enzyme (Penicillinasen oder Betalactamasen bei Staphylokokken und Enterobakterien)

» Modifikation des Angriffspunktes (Veränderung der Penicillin-Bindeproteine bei MRSA)

» Entstehen einer Undurchlässigkeit der Zellwand durch veränderte Porine (Carbapenem-resistenz bei *Pseudomonas aeruginosa*)

» Ausscheidung des Antibiotikums durch aktiven Transport (Efflux; Tetracyclinresistenz bei Staphylokokken und Enterobakterien).

Unter normalen Bedingungen verschwinden die oben beschriebenen Mutanten wieder, da ihre Mutationen keinen Vorteil gegenüber den „normalen“ Vertretern ihrer Gattung bieten. Wenn die Mutation aber einen Überlebensvorteil bietet - etwa während einer Antibiotika-behandlung, bei der empfindliche Bakterien absterben und resistente überleben - setzen sich diese durch, d. h. sie werden selektioniert.

Während die natürliche Resistenz ein dauerhaftes und daher vorhersagbares Merkmal einer Bakterienart ist, ist die erworbene Resistenz nicht vorhersehbar und macht somit im Falle eines Erregernachweises im Rahmen einer Infektion die Durchführung einer Empfindlichkeitsprüfung notwendig.

WARUM SOLL DIE EMPFINDLICHKEIT VON BAKTERIEN GEGENÜBER ANTIBIOTIKA GETESTET WERDEN?

Ziel der Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm) ist die Ermittlung des Resistenzverhaltens von Mikroorganismen, die eine Erkrankung verursachen. Diese Information ist eine wichtige Hilfe bei der Wahl eines geeigneten Wirkstoffes zur antiinfektiösen Therapie.

Dabei geht es einerseits darum für den individuellen Patienten die optimale Therapie zu finden und andererseits ist es das Ziel, epidemiologische Daten über die Resistenzentwicklung zu sammeln, und dadurch die empirische Therapie an die aktuelle Resistenzsituation anzupassen.

WANN SOLL DIE EMPFINDLICHKEIT VON BAKTERIEN GEGENÜBER ANTIBIOTIKA GETESTET WERDEN?

Grundsätzlich soll die Empfindlichkeitsprüfung nur bei Keimen durchgeführt werden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit als Infektionserreger anzusehen sind und deren Empfindlichkeit nicht vorhersehbar ist.

Eine Empfindlichkeitsprüfung soll in der Regel nicht durchgeführt werden, wenn bei der Keimidentifizierung nur Keime der Normalflora gefunden werden. Das bedeutet jedoch nicht, dass diese in speziellen Fällen nicht doch auch von krankheitsursächlicher Relevanz sein können. Ein gutes Beispiel dafür ist der Nachweis von *Staphylococcus epidermidis*, der als Bestandteil der Hautflora in vielen Proben als Kontamination vorkommt aber genauso gut ein häufiger Erreger einer mit intravenösen Kathetern assoziierten Infektion oder von Infektionen künstlicher Gelenke sein kann.

MIT WELCHEN METHODEN KANN MAN DIE EMPFINDLICHKEIT VON BAKTERIEN GEGENÜBER ANTIBIOTIKA TESTEN?

Die meisten Methoden sind wachstumsbasiert; dabei wird die zu prüfende Bakterienkultur mit unterschiedlichen Konzentrationen eines Antibiotikums inkubiert und das Ausmaß der Wachstumshemmung nach einer definierten Zeit abgelesen. Da das Resultat stark von den Testbedingungen abhängig ist, ist die Verwendung von standardisierten Methoden unumgänglich. Seit einigen Jahren gibt es europäische Standards (EUCAST) nach deren Richtlinien die Resistenztestung durchgeführt werden sollte. Strikte Qualitätskontrollen sind ebenfalls eine unabdingbare Voraussetzung für valide Ergebnisse.

Die Grundgröße zur Messung der Empfindlichkeit von Bakterien beruht auf der Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration (**MHK**), siehe Abbildung [7] auf Seite [9].

Die Bestimmung der MHK mittels Bouillonverdünnung ist das klassische Verfahren der Empfindlichkeitsprüfung. Dazu stellt man eine geometrische Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Antibiotikums in einem flüssigen Nährmedium her, wobei dann alle Verdünnungsstufen mit einer definierten Erregermenge beimpft und anschließend bebrütet werden. Das Erregerwachstum wird über die Trübung des Mediums nachgewiesen. Die niedrigste Konzentration des Antibiotikums, die zur Wachstumshemmung führt, wird als minimale Hemmkonzentration (in mg/l) angegeben.

Die Bouillonverdünnung kann in Röhrchen (Makrodilution) oder im verkleinerten Maßstab in Mikrotiter-Platten (Mikrodilution) durchgeführt werden. Die Miniaturisierung erlaubt eine Automatisierung dieses Verfahrens mit maschineller Beimpfung von vorgefertigten Teststreifen, Inkubation in einem geschlossenen System und photometrischer Messung des Wachstums. Die Auswertung erfolgt dann EDV gestützt und mit Hilfe von Expertensystemen.

Neben der direkten Bestimmung der MHK ist die Empfindlichkeitsprüfung mittels eines Agardiffusionstest ein routinemäßig sehr häufig angewendetes Verfahren. Bei diesem Verfahren wird der Testkeim auf ein festes Kulturmedium aufgebracht und anschließend werden Antibiotikumhaltige Filterpapierblättchen aufgelegt.

Während der Bebrütung diffundiert das Antibiotikum aus dem Filterpapier in den Agar, wodurch sich ein Konzentrationsgefälle des Wirkstoffes ergibt. Bei Wachstumshemmung zeigt sich um das Testblättchen eine wachstumsfreie Zone, die als Hemmhof bezeichnet wird. Im Randbereich des Hemmhofs entspricht die Konzentration des Antibiotikums im Agar der minimalen Hemmkonzentration; es korreliert also die MHK mit der Größe des Hemmhofdurchmessers. Durch Untersuchung vieler hunderter Bakterienstämme lässt sich eine Korrelation zwischen MHK und Hemmhofdurchmesser darstellen, womit schlussendlich die Größe des Hemmhofdurchmessers genauso wie die MHK interpretiert werden kann.

Um **MHK**-Werte in klinisch brauchbarer Art und Weise zu interpretieren, ist die Definition entsprechender Grenzwerte („breakpoints“) erforderlich. Grenzwerte resultieren aus einer Vielzahl von Daten, wie MHK-Verteilungen, Resistenzdaten und Mechanismen, pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften eines Wirkstoffes sowie den Ergebnissen klinischer Studien.

Diese Grenzwerte werden schlussendlich zur Einordnung der Bakterien, die von Patienten isoliert und im Labor kultiviert wurden, in die Kategorien **sensibel**, **intermediär** oder **resistent** herangezogen. Ziel ist es dabei diese klinischen Grenzwerte mit der Wirksamkeit des Antibiotikums in der Behandlung von Infektionen zu korrelieren.

Dabei bedeutet „**sensibel**“, dass die durch den getesteten Stamm verursachte Infektion mit großer Wahrscheinlichkeit durch das entsprechende Antibiotikum bei normaler Dosierung behandelt werden kann. „**Resistent**“ bedeutet, dass ein Therapieerfolg nicht zu erwarten ist.

Die Kategorie „**intermediär**“ hingegen bedeutet, dass mit einer höheren Dosierung des Wirkstoffes und dem Erreichen hoher Spiegel am Infektionsort ein Behandlungserfolg möglich erscheint. Diese Kategorie dient aber auch als Pufferzone um methodische Schwankungen zu glätten und zu verhindern, dass von Besiedelten bzw. Kranken isolierte Bakterien einmal als resistent und bei der nächsten Testung als empfindlich oder umgekehrt eingestuft werden.

Neben den wachstumsbasierten Tests zum Nachweis der Resistenz spielt der Nachweis von Resistenzgenen eine zunehmende Rolle. Solche Tests kommen beispielsweise zum Nachweis von multiresistenten Erregern (MRSA oder Carbapenemase-bildende Enterobakterien) zur Anwendung und ermöglichen Ergebnisse innerhalb sehr kurzer Zeit.

Besonders bei langsam wachsenden Keimen, wie z. B. *Mycobacterium tuberculosis* ist es von besonderem Vorteil wenn mit molekularen Methoden nicht nur der Erregernachweis sondern auch eine Resistenztestung z.B. gegenüber Rifampicin direkt aus dem Untersuchungsmaterial innerhalb weniger Stunden durchgeführt werden kann. Der molekularbiologische Nachweis einer Rifampicin-Resistenz korreliert in mehr als 95% der Fälle mit der schwer behandelbaren „multidrugresistant-tuberculosis“ (MDR-TB).

WAS SIND MULTIRESISTENTE BAKTERIEN (MRE, MULTIRESISTENTE ERREGER) ?

Die multiresistenten Erreger (**MRE**) sind Bakterien, welche gegen die meisten Antibiotika unempfindlich sind. In den vergangenen Jahrzehnten standen vorwiegend Methicillin-resistente Stämme von *Staphylococcus aureus* (**MRSA**) im Mittelpunkt der Betrachtung.

In den letzten Jahren lässt sich jedoch weltweit eine deutliche Zunahme von multiresistenten gramnegativen Stäbchenbakterien (**MRGN**) aufgrund des Auftretens und der raschen Verbreitung immer neuer Resistenzgene beobachten. Zu den wichtigsten MRGN zählen die Enterobakterien wie *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* sowie auch *Pseudomonas aeruginosa* und der *Acinetobacter*-Komplex. Auch die Vancomycinresistenten Enterokokken (**VRE**) gewinnen an Bedeutung.

Während **MRE** über lange Zeit hauptsächlich als ein Problem des Krankenhauses wahrgenommen wurden, sind nun auch Pflegeeinrichtungen und der niedergelassene Bereich der Arztpraxen zunehmend mit dieser Problematik konfrontiert.

Die Erkennung und Klassifikation multiresistenter Erreger im diagnostischen Labor erfordert die detaillierte Kenntnis aktueller Richtlinien und der spezifischen Methodik sowie praktische Erfahrung. Besonders um die Übertragung multiresistenter Erreger in Einrichtungen des Gesundheitssystems zielgerichtet verhindern zu können, ist hierbei der Zeitfaktor maßgeblich. Die Beschleunigung der Diagnostik wird nur durch die Anwendung von zertifizierten Spezialtests und selektiven Indikatornährböden ermöglicht.

Durch die Anwendung moderner Techniken im Mikrobiologielabor von **LABORS.AT** können im Falle von Screening-Untersuchungen bzw. bei einem im Antibiogramm auftretenden Verdacht auf eingeschränkte Empfindlichkeit Multiresistenzen besonders zeitnah (d.h. innerhalb 24 Stunden) identifiziert werden.

ENDE des Informationstextes
