

Christine Köhler
Dr. med. dent.

Bakterienidentifikation mittels Matrix-unterstützter Laserdesorptions/ Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie direkt aus der positiven Blutkultur

Promotionsfach: Infektiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Klaus Heeg

Endokarditis und Sepsis sind schwerwiegende Krankheitsbilder mit zum Teil letalem Ausgang. Dabei ist das möglichst zeitnahe Einleiten einer adäquaten antibiotischen Therapie entscheidend für die Prognose des Patienten. Voraussetzung hierfür ist die Kenntnis des verantwortlichen Keims. Mit neuen diagnostischen Verfahren zur Erregeridentifikation direkt aus der positiven Blutkultur wie z.B. dem Direkt-Vitek und der hier untersuchte MALDI-TOF-Massenspektrometrie soll dieser Schritt beschleunigt und damit die Therapieeffizienz verbessert werden.

Ziel dieser Arbeit war es die MALDI-TOF-MS im Routinelabor zu etablieren und im Vergleich zu den herkömmlichen diagnostischen Verfahren zu bewerten. Dabei interessierten vor allem die Qualität der Befunde, der Zeitgewinn bis zum Vorliegen der Diagnose und ein möglicher ökonomischer Vorteil.

Dazu wurden im Zeitraum vom 24.03.2009 bis zum 07.03.2010 insgesamt 211 Blutkulturen von Patienten verschiedener Stationen des Uniklinikums Heidelberg und der Schmieder Kliniken Heidelberg mit der MALDI-TOF-MS untersucht. Parallel erfolgte die Keimidentifikation mittels konventioneller Methoden, u.a. manueller und automatisierter biochemischer Verfahren, die als Goldstandard herangezogen wurden. In fraglichen Fällen wurde zusätzlich eine 16S-rDNA-Sequenzierung der entsprechenden Probe durchgeführt. Zur Berechnung des Zeitgewinns wurden der Zeitpunkt des Probeneingangs, des Nachweises von Keimwachstum in der Kultur und der Freigabe des Endbefundes dokumentiert.

Von den insgesamt 197 Blutkulturen, die in die Gesamtwertung gingen, konnte in 166 Fällen (84 %) der enthaltene Keim identifiziert werden. Dabei wiesen jedoch nur 118 dieser richtigen Zuordnungen einen SCORE \geq des definierten Grenzwertes von 1.700 auf, so dass die Gesamtidentifizierungsrate 60 % beträgt. 38,6 % der Ergebnisse lagen mit ihrem SCORE unterhalb von 1.700, 61,4 % darüber. Damit ergeben sich eine Sensitivität von 71 % und eine Spezifität von 90 %.

Bei der Aufschlüsselung der Untersuchungsergebnisse nach Keimen fiel zunächst auf, dass die Sensitivität für grampositive Keime (78 %) etwas niedriger ist als für gramnegative (81 %). Die Nachweisraten für Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken und *Pseudomonas aeruginosa* betragen jeweils 56 %, 22 %, 86 % und 40 %. Bei 29 der untersuchten Blutkulturen handelte es sich um Mischkulturen, deren dominanter Keim in 16 Fällen (55 %) richtig identifiziert wurde. Es wurde bei der Auswertung der Ergebnisse kein Unterschied zwischen aerober und anaerober Kultur festgestellt. Eine weitere Nachbebrütung erbrachte keine Vorteile für die Identifikation des Erregers. Das gleiche galt für das Anfertigen einer 1:10-Verdünnung der zu untersuchenden Extrakte. Unterschiedliche Untersuchungszeitpunkte innerhalb von 24 Stunden nach der Positivmeldung der Kultur wirkten sich nicht auf das Ergebnis der MALDI-Untersuchungen aus. Wichtige Einflussgrößen, die sich auf die Qualität der Keimspektren auswirken, sind das Kulturmedium, die Keimzahl und die Repräsentation des Keims in der Datenbank. Der Zeitgewinn bis zum Vorliegen der Diagnose betrug mit der MALDI-TOF-Massenspektrometrie im Mittel 31 Stunden.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse lässt sich die MALDI-TOF-Massenspektrometrie als schnelle und einfache Methode zur Erregeridentifikation charakterisieren. Die Erreger werden unter den gewählten Bedingungen ($\text{SCORE} \geq 1.700$) mit hoher Spezifität identifiziert. Die Sensitivität des Verfahrens reicht beim derzeitigen Entwicklungsstand noch nicht aus, die etablierten diagnostischen Verfahren vollständig zu ersetzen. Allerdings gibt es zahlreiche Ansatzpunkte, wie Modifikation der Extraktionsprotokolle, der Geräte und der Datenbanken, die klinisch noch junge MALDI-TOF-MS weiter zu verbessern. Bereits jetzt ist die MALDI-TOF-Massenspektrometrie eine wichtige Ergänzung der Diagnostik, die durch das erheblich raschere Vorliegen des Ergebnisses für den vital bedrohten Patienten von großer Bedeutung sein kann.