



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Optimierung der MALDI - TOF - MS - basierten Keimidentifikation  
von Blutkulturen im Institut für Klinische Chemie (IKC) der  
Medizinischen Fakultät Mannheim**

Autor: Anna Katherina Greulich  
Institut / Klinik: Institut für Klinische Chemie  
Doktorvater: Prof. Dr. M. Neumaier

Erregeridentifikation aus Blutkulturen ist neben traditionellen Methoden phänotypischer und biochemischer Art auch massenspektrometrisch möglich. Seit Oktober 2010 wird die MALDI - TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight Mass Spectrometry) Technologie im Institut für Klinische Chemie (IKC) der medizinischen Fakultät Mannheim ergänzend zu den klassischen Methoden angewendet. Dabei findet vor der eigentlichen Analyse eine Aufbereitung der Proben aus positiven Blutkulturen statt. Die dazu erforderlichen Arbeitsschritte waren bislang in einem Routineprotokoll hinterlegt. Neben einem großen Zeit- und Arbeitsaufwand (pro Probe ca. 1,2 Stunden) zeichnete sich dieses durch verbesserungswürdige Bestimmungsergebnisse aus, hierbei insbesondere mit einer Keimidentifizierungsrate der grampositiven Probenfraktion von 50,2%.

Zur Optimierung kamen neben der Inkubation im flüssigen Nährmedium als anderer Ansatz lysierende Reagenzien zum Einsatz, um die bakterielle Fraktion der Proben zu vergrößern und analysebeeinträchtigende Probenkomponenten zu eliminieren.

Nach Zwischeninkubation konnten vielversprechende Identifizierungsraten erhoben werden, jedoch erwies sich dieser Arbeitsschritt für den Routinealltag als nicht praktikabel.

Bei der Erprobung der Effizienz verschiedener lysierender Substanzen fanden neben Ammoniumchlorid auch Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) und TritonX100 Verwendung. Letzteres präsentierte sich im Laufe der Untersuchungen an Blutkulturen aus der Routinediagnostik sowie selbst hergestellten Blutkulturen als zu bevorzugendes Reagenz und fand erstmals im Rahmen des TritonX100 0,6% Protokolls Anwendung. Erwies sich der Arbeitsablauf in der Praxis als anwenderfreundlich und schnell durchführbar, waren die Bestimmungsergebnisse dem als Goldstandard mitgeführten Sepsityper™ Protokoll unterlegen.

Aus einer weiteren Versuchsreihe ging schließlich das TritonX100 1,2% Protokoll hervor. Dieses konnte im Verlauf über seine Anwenderfreundlichkeit hinaus mit einer hohen Keimidentifizierungsrate, insbesondere die grampositive Bakterienfraktion betreffend, überzeugen (72,9% in der Langzeitauswertung). Nicht zuletzt ist dies auf die Auftragsmengenvariation der Probe auf die Probenplatte zur MALDI - TOF Analyse zurückzuführen. Sie beruht darauf, dass jeweils zwei Felder mit 0,5 µl bzw. 1 µl Probenüberstand bestückt und mit je 1 µl Matrix überschichtet werden. In der Validität der MALDI - Bestimmungen steht das TritonX100 1,2% Protokoll dem Routineprotokoll in nichts nach, scheint es dennoch im Vergleich zum Sepsityper™ Protokoll durch eine schlechtere Ergebnisvalidität gekennzeichnet zu sein, wobei hier noch weiter gehende Versuche zur Klärung dieses Sachverhalts ausstehen. Der Zeitaufwand für das TritonX100 1,2% Protokoll beläuft sich auf ca. 0,3 h - eine Reduktion zum Routineprotokoll um ca. 70%.

Im November 2012 gelang die Etablierung des TritonX100 1,2% Protokolls in der Routinediagnostik des IKC der medizinischen Fakultät Mannheim als fortan neuer Arbeitsablauf zur Aufbereitung der Blutkulturen für die anschließende massenspektrometrische Analyse, weiterhin ergänzend zu den klassischen Methoden zur Bakterienidentifizierung.

Seit Dezember 2012 wurde TritonX100 jedoch als Mitglied der Octylphenoethoxyate auf die Kandidatenliste der besonders besorgniserregenden Stoffe aufgenommen. Dies stellt laut Umweltbundesamt den ersten Schritt für eine EU - weite Anwendungs- und Zulassungsbeschränkung dar. Als alternatives Reagenz bietet sich SDS an, das sich durch eine hohe Lyseeffizienz auszeichnet. Durch Anpassung der zum Einsatz kommenden Konzentration kann sicherlich für die Zukunft eine gute Alternative zum TritonX100 1,2% Protokoll geschaffen werden.