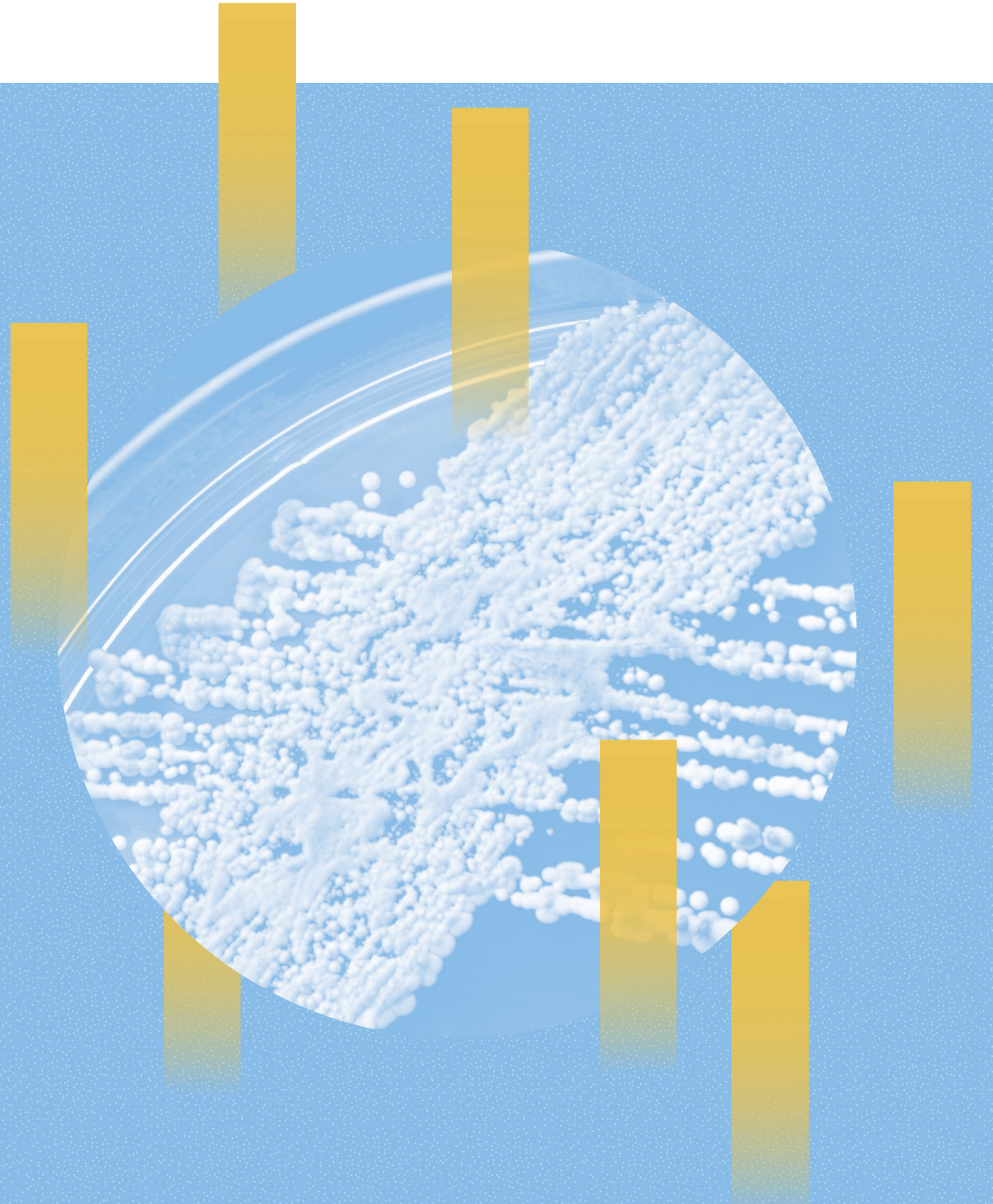


**AST: Antibiotika-
Empfindlichkeitstests
bei Labor Berlin**



Einleitung

Das sogenannte Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) / Antibiotika-Empfindlichkeitstestung ist ein Laborverfahren, das bestimmt, wie wirksam Antibiotika gegen bestimmte Bakterien oder Pilze sind.

Um festzustellen, ob ein Antibiotikum gegen ein bestimmtes Bakterium wirkt, werden Methoden eingesetzt, die zeigen, wie stark das Wachstum der Bakterien durch das Antibiotikum gehemmt wird. Die wichtigste Kennzahl ist dabei die minimale Hemmkonzentration (MHK) – also die geringste Menge des Antibiotikums, die das Wachstum stoppt.



Klassische Methoden

Mikrodilution (Verdünnungsmethode)

- Das Bakterium wird in verschiedenen Konzentrationen des Antibiotikums kultiviert.
- Nach 12 bis 18 Stunden wird geprüft, ab welcher Konzentration das Bakterium nicht mehr wächst.
- Bei Labor Berlin wird ein automatisiertes System verwendet, das Trübung und Wachstumskinetik misst (Turbidimetrie) und die Daten mit einer Datenbank abgleicht.
- Für Spezialfälle werden 96-Well-Platten mit manueller oder automatisierter Auswertung eingesetzt.

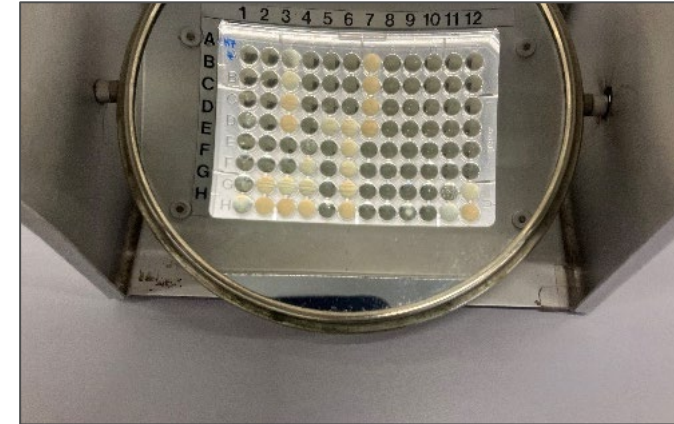


Abb.1: Turbidimetrische Messung in einer 96-Well Platte. Innerhalb einer Verdünnungsreihe zeigt das Well mit der Konzentration ohne Trübung die minimale Hemmkonzentration.



Abb.2: Miniaturisierte und automatisiert messbare Variante der turbidimetrischen Messung.

Klassische Methoden

Agar-Diffusionsmethode ("Plättchentest")

- Die Bakterien werden auf einer Agarplatte ausgebracht.
- Antibiotikahaltige Plättchen werden auf die Platte gelegt.
- Nach 12 bis 18 Stunden entsteht bei 35°C ein Hemmhof um jedes Plättchen.
- Der Durchmesser dieses Hemmhofs in mm zeigt, wie empfindlich das Bakterium auf das Antibiotikum reagiert.
- Diese Methode dient zur Bestätigung oder wenn andere Tests nicht funktionieren.
- Eine frühzeitige Auswertung nach 4 bis 8 Stunden ist theoretisch möglich, aber sehr arbeitsintensiv.

E-Test (Epsilonometer-Test)

- Ein Teststreifen mit Antibiotika in unterschiedlichen Konzentrationen wird auf eine beimpfte Agarplatte gelegt.
- Nach der Inkubation entsteht ein elliptischer Hemmhof.
- Die MHK kann nach 12-18h direkt an der Stelle abgelesen werden, wo das Wachstum endet.
- Diese Methode dient ebenfalls als Bestätigungstest.

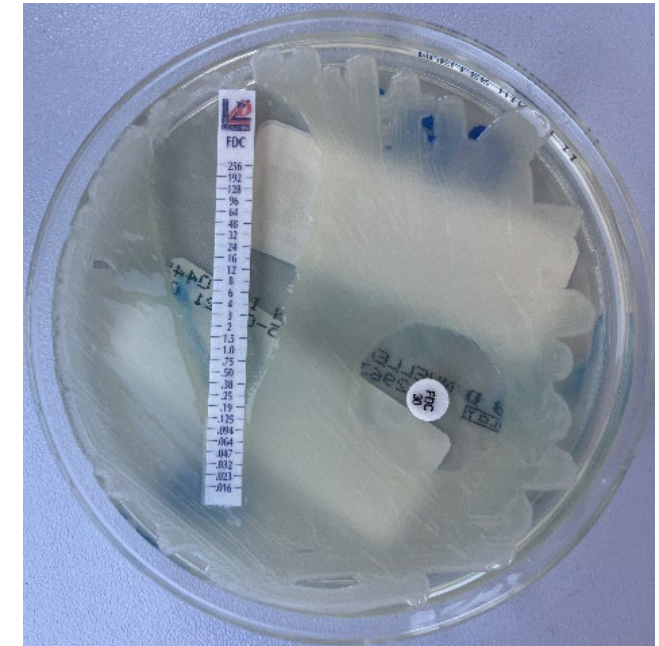


Abb.3: Links Epsilonometer-Test und rechts Agardiffusionstest gegen das Antibiotikum Cefiderocol. Um den Streifen des Epsilonometer-Tests ist ein elliptischer Hemmhof im Bakterienrasen sichtbar. Die MHK kann an der unteren Grenze des Hemmhofs abgelesen werden. Um das runde Plättchen für den Agardiffusionstest ist der Hemmhof symmetrisch rund. Abgelesen wird der Durchmesser.



Neue Methoden

Zur Beschleunigung phänotypischer Methoden gibt es moderne Ansätze, um die MHK schneller zu bestimmen (innerhalb von 2 bis 8 Stunden):

- Messung der Veränderung der Membranfluidität und Anfärbbarkeit der Bakterienmembran
- Messung des Wachstums mikroskopisch kleiner Mikrokolonien
- Messung von Stoffwechselprodukten in der Gasphase über einer Mikrokultur
- Messung der Veränderung von Nanobewegungen mit einem Rasterelektronenmikroskop (Atomic Force Microscope, AFM).

Diese Verfahren sind sehr teuer, überschreiten die Kosten von Standardmethoden um ein Vielfaches und sind daher nicht alltagstauglich.

Zudem kann die Speziesbestimmung mittels MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser-Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) bereits innerhalb weniger Minuten erfolgen und oft eine gezielte Therapie ermöglichen – auch ohne Resistenztest.

Bewertung der Ergebnisse - EUCAST

Die gemessenen Werte (MHK oder Hemmhofdurchmesser) müssen interpretiert werden. Dazu dienen internationale Standards:

- EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; Verwendung in Europa, u. a. bei Labor Berlin)
- CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute, USA)

Je nach Bakterienart und Antibiotikum wird der Befund als:

- S (sensibel),
- I (sensibel bei erhöhter Dosierung) oder
- R (resistent)
- klassifiziert.

Wenn keine Bewertung für eine Kombination vorliegt, kann auf verwandte Spezies zurückgegriffen werden oder die Therapie muss individuell angepasst werden.



Serologische Methoden

Labor Berlin verwendet schnelle und zuverlässige Schnelltests zur Bestimmung bestimmter Resistenzmechanismen wie:

- veränderte Penicillinbindungsproteine bei Staphylokokken
- Carbapenemasen bei Enterobacterales und Acinetobacter

Vorteil: Schnell, zuverlässig und kostengünstig.

Bei Abweichungen (selten): erfolgt ggf. eine Sequenzierung und/oder ein Versand an das deutsche Referenzzentrum für gramnegative Krankheitserreger in Bochum.

Molekularbiologische Methoden

Auf Basis des Nachweises spezifischer genetischer Sequenzen können bestimmte Resistenzen mit hoher Sensitivität und Spezifität vorhergesagt werden, z. B.:

- Betalaktamresistenz bei Staphylokokken durch verändertes Penicillinbindungsprotein
- Carbapenemresistenz bei Enterobacterales durch Carbapenemasen

Deutlich unsicherer ist die Vorhersage bei Resistenzen, die durch komplexe Mechanismen entstehen, wie:

- Kombination mehrerer Faktoren (z. B. Zielstrukturveränderung, Enzyme, Membranpermeabilität, Efflux)
- regulierte Expression resistenzvermittelnder Gene nach Antibiotikaexposition

Künftig könnten umfangreiche Genomdaten und der Einsatz mathematischer Algorithmen im Abgleich mit Phänotypdaten die Interpretation deutlich verbessern.

Ob diese Ansätze die gemessene MHK langfristig ersetzen können und dabei medizinisch sowie wirtschaftlich sinnvoll sind, ist Gegenstand aktueller Forschung

Fachbereich Mikrobiologie & Hygiene

Direktor: Prof. Dr. Andreas Diefenbach

Leitung: Dr. Andreas Knaust

Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH

Sylterstraße 2

13353 Berlin

www.laborberlin.com



Kontakt:

Dr. Andreas Knaust

Andreas.Knaust@laborberlin.com