

# Resistenztestung von Bakterien: Umstellung des Agardiffusionstests auf die NNCLS-Methode

## Ø Warum ist eine Umstellung der Methode notwendig ?

Die Wirksamkeit von Antibiotika gegen Bakterien, die aus den von Ihnen eingeschickten Untersuchungsproben angezüchtet werden, wird traditionell auch in unserem Labor mit dem Agardiffusionstest bestimmt. Dabei wurde unsere im Labor geübte Methode an die in Deutschland weit verbreitete DIN-Norm für den Agardiffusionstest angelehnt. Die DIN-Methode deckt aber nicht alle Bereiche ab und wird nur in größeren Abständen aktualisiert, sodaß für eine Reihe von Fragestellungen (Bakterien-Wirkstoff-Konstellationen) andere Bewertungskriterien eingesetzt werden mußten.

Im Zuge der Akkreditierung unseres Labors wurde es notwendig, die Bewertung der Resistenztestung zu vereinheitlichen und die Methode auf ein höheres Niveau der Standardisierung zu stellen. Das ist möglich mit der von der NCCLS (= National Committee for Clinical Laboratory Standardisation der USA) beschriebenen Methode [1, 2]. Wir bedienen uns auch künftig des gleichen Grundprinzips der Resistenztestung, des Agardiffusionstests, der unten kurz erläutert wird.

## Ø Wie läuft der Agardiffusionstest ab ?

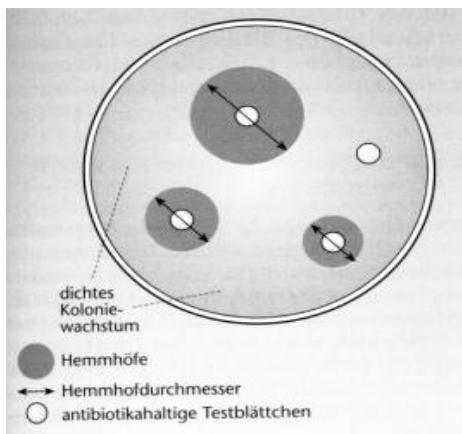


Abb. 2.21 Agardiffusionstest – schematische Darstellung.

Zum besseren Verständnis soll hier kurz das Grundprinzip der Methode ins Gedächtnis zurückgerufen werden, ohne auf Details einzugehen.

1. Eine Reinkultur eines pathogenen Bakterien-Isolats wird hergestellt.
2. Der Keim wird identifiziert.
3. Die Bakteriensuspension wird in einer definierten Keimdichte auf einen Agar-Nährboden aufgebracht.
4. Filterpapierscheiben, die mit einer definierten Wirkstoffmenge imprägniert wurden, werden auf den Agar aufgelegt.
5. Die Nährböden werden unter streng standardisierten Bedingungen (Zeit, Temperatur, Gas-Zusammensetzung) bebrütet.
6. Wenn eine Hemmung des Bakterien-Wachstums um ein Testblättchen zu sehen ist, spricht das für eine antibakterielle Wirkung des Präparats.
7. In diesem Falle wird der Durchmesser des Hemmhofs gemessen und seine Größe (mm) mit einer Tabelle verglichen, in der die Grenzen für „empfindlich“, „intermediär“ und „resistent“ für den Keim beschrieben sind.
8. Diese Messungen werden in einem Antibiogramm für das Isolat zusammengefaßt, das auf dem Befund erscheint.

## Ø Welche Vorteile bringt die NCCLS-Methode für Arzt und Patient ?

- § Jährliche Aktualisierung der Bewertungskriterien durch die NCCLS, sodaß stets auch die neuesten (evaluierten) Präparate sowie Veränderungen in der Resistenzentwicklung von Keimen mit berücksichtigt werden können
- § Höherer Grad an Reproduzierbarkeit durch strenge Definition aller Bedingungen des Tests
- § Vorselektion der zu testenden Wirkstoffe entsprechend der Keimart, dadurch Einsparung an Material und Kosten: im Einzelfall müssen im Labor nicht mehr als 10 Antibiotika getestet werden
- § Strengere Auswahl der Wirkstoffe im Hinblick auf den zu erwartenden klinischen Effekt, damit auch Vermeidung von wenig wirkungsvollen Therapieversuchen
- § Breite Anwendung der Erkenntnisse von natürlichen, Gruppen- und Kreuzresistenzen bei der Interpretation und Mitteilung der Resistenzergebnisse an den einsenden Arzt
- § Ausführliche Interpretationskriterien werden uns von der NCCLS an die Hand gegeben, um komplexe Resistenzmuster zu erkennen
- § Im europäischen Ausland ist in vielen Ländern die NCCLS-Methode der Standard in der Resistenztestung. Damit werden unsere Ergebnisse besser vergleichbar mit denen unserer Nachbarn in Europa.

## Ø Was ändert sich mit der Umstellung für den einsenden Arzt ?

- § Im Antibiogramm kann jetzt zusätzlich anhand des Hemmhofs die **Kategorie „intermediär“**, versehen mit dem Kürzel **ms** für mäßig sensibel, angegeben werden. Diese Angabe bedeutet nach der Definition der NCCLS, „ daß der Keim unter bestimmten Bedingungen in vivo auf das Antibiotikum ansprechen kann: wenn es in hoher Dosierung eingesetzt werden kann (z.B.  $\beta$ -Lactam-Antibiotika) oder der Wirkstoff in dem entsprechenden Organ auf physiologische Weise konzentriert wird (z.B. Chinolone und  $\beta$ -Lactame im Urin)“.
- § Die **Auswahl der Wirkstoffe** wurde entsprechend den Empfehlungen der NCCLS (2004) und der Paul-Ehrlich-Gesellschaft neu getroffen und die Zahl der zu testenden Wirkstoffe limitiert.
- § **Erkenntnisse von Gruppen – und Kreuzresistenzen werden mitgeteilt**, auch wenn das entsprechende Präparat aufgrund einer natürlich vorliegenden Resistenz oder eines eindeutigen Resistenzmusters bei einer Leitsubstanz für eine Wirkstoffgruppe (z.B. Penicilline) nicht getestet werden muß.
- § Für bestimmte Keim-Wirkstoff-Kombinationen, bei denen (noch) keine Interpretationskriterien der NCCLS vorliegen ( d.h. die wissenschaftliche Datenlage noch nicht ausreicht) erhalten Sie Kommentartexte, die Empfehlungen von mikrobiologischen Fachgesellschaften wiedergeben.
- § Für einige seltene Konstellationen Bakterium-Wirkstoff ist es möglich, daß der Agardiffusionstest keine auswertbaren Ergebnisse liefert. Hier ist im Einzelfall der Einsatz einer alternativen Methode zur Resistenzbestimmung (z.B. Agardilutionstest) in einem externen Labor nötig.
- § Sondertestungen außerhalb des vorgesehenen Spektrums an Antibiotika sollten auf ein Minimum begrenzt werden und müssen unter den Vorbehalt evtl. nicht vorliegender NCCLS-Kriterien gestellt werden. Im Einzelfall sollten diese Fragen zwischen behandelndem Arzt und Laborarzt abgestimmt werden.

Sollten Sie Fragen zum Test oder den eingesetzten Antibiotika haben, kontaktieren Sie bitte direkt Dr.Schön unter 02823-97140.

## Ø Zusammenfassung

Die Umstellung des Agardiffusionstests auf die von der NCCLS beschriebene Methode erfolgt im Rahmen der Akkreditierung des Labors. Der Einsatz der NCCLS-Methode erlaubt uns ein schnelleres Reagieren auf die Entwicklung des Antibiotika-Marktes. Mit der Methode können besondere Resistenz-Situationen besser erkannt und interpretiert werden. Die Resistenztestung wird durch die höhere Standardisierung aller Bedingungen noch reproduzierbarer. Die Ergebnisse der Resistenztestung

werden jetzt auch im internationalen Rahmen besser vergleichbar, da in vielen europäischen Ländern die NCCLS-Methode Standard ist.

*Literatur*

[1] NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Eighth Edition.* NCCLS document M2-A8 (2003)

[2] NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing; Fourteenth Informational Supplement.* NCCLS document M100-S14 (2004)

Publiziert: November 2004

© dr.ekkehard schön 2004

---