

# Differenzierung von unterschiedlich resistenten Problemkeimen in Flüssigkultur mittels GC-IMS

G. Becher<sup>1,2</sup>, T. Räßler<sup>4</sup>, R. Purkhart<sup>3</sup>, C. Steppert<sup>5</sup>, S. Schimanski<sup>5</sup>, W. Schüler<sup>6</sup>

<sup>1</sup> BecherConsult GmbH, Bernau; <sup>2</sup> Graupner medical solutions GmbH, Geyer; <sup>3</sup> IFU GmbH, Lichtenau; <sup>4</sup> Hochschule Mittweida; <sup>5</sup> Klinikum Bayreuth; <sup>6</sup> STEP-Sensortechnik GmbH Pockau

## Einleitung

Für die bakterielle Diagnostik kommt es unter dem Eindruck einer wachsenden Anzahl von resistenten Keimen und dem Zeit- und Kostendruck zu neuen Intentionen bei der Suche nach preiswerten und schnellen Verfahren. Ein besonderes Problem stellt die rasche und sichere Erkennung von multiresistenten Stämmen dar.

## Material und Methoden

Es wurde versucht, mit einem Serienmuster einer GC-IMS (Ionenbeweglichkeitsspektrometer) der Firma STEP MRSA und MSSA an Hand volatiler Marker im Headspace von Flüssigkulturen (Brain Heart Infusion) zu erkennen. Dazu wurde der Headspace frisch angesetzter Kulturen über bis zu 24 Stunden sequentiell abgesaugt und mittels GC-IMS Ionenspektrogramme erfasst. Jede Einzelkultur stammte von einer anderen Probe. Die Messungen wurden mit dem Ergebnis der mikrobiologischen Diagnostik validiert.

Es wurde der Headspace von verschlossenen temperierten Bakterienkulturen abgesaugt. Hierfür wurden die Reagenzgläser mit einem Deckel verschlossen, welcher Öffnungen für zwei Schläuche besaß. An einem wurde das Messgerät und an dem anderen gefilterte Luft angeschlossen (Abbildung 1). Das IMS-System mit vorgeschalteter GC-Säule saugt die Proben automatisch ein. In den erhaltenen Spektrogrammen wurden die relevanten Peaks identifiziert und mittels Clusteranalyse gruppiert. Die Korrekturklassifikationsraten für die Differenzierung der verschiedenen Bakterien wurden mittels Diskriminanzanalyse und Leave-One-Out Kreuzvalidierung ermittelt.

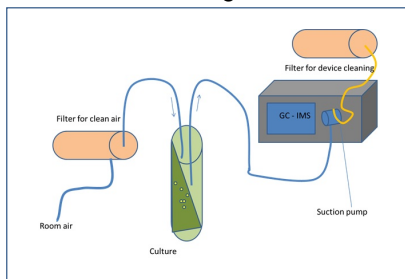


Abbildung 1: Versuchsaufbau

Für die Studie standen Proben verschiedener Keime in Flüssigkulturen zur Verfügung:

- 2: MRSA (40); 3: MSSA (32); 4: E. coli (19); 5: Enterobacter (16);
- 6: Klebsiella pneumoniae (19); 7: Ps. aerug. (21); 8: Stenotrophomonas maltophilia (13); 9: Citrobacter freundii (10)
- 1: Unbeimpfter Nährboden (NB)

## Ergebnisse

In der Spektralauswertung konnten für MRSA und MSSA mindestens 2 Cluster gefunden werden, die eine signifikante Differenzierung zwischen beiden Keimen erlauben (Abb. 2), bei ansonsten, wie zu erwarten, hoher Ähnlichkeit der Spektren.

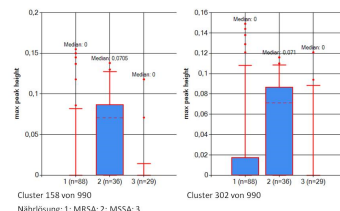


Abb. 2: Differenzierung zwischen MRSA und MSSA mit Cluster 158, 302 von 990

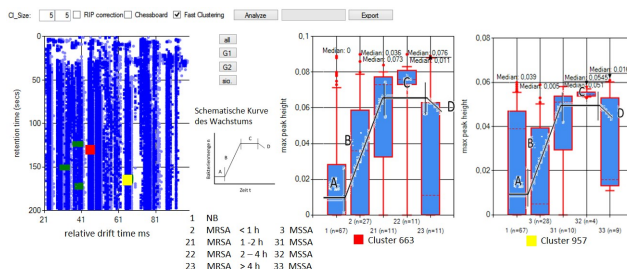


Abb. 3 Zeitliche Diskriminierung über 24 h Kultur:

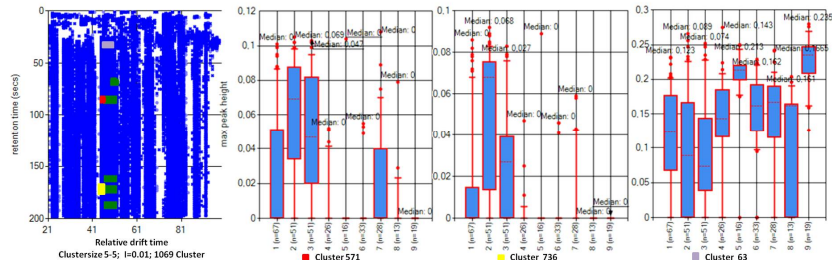


Abb. 4 Diskriminierung gegen andere Keime

## Diskussion

Eine Unterscheidung verschiedener Bakterienarten mittels GC-IMS ist durch VOC-Messung im Headspace der Kulturen möglich. Die große Zahl erkannter Peaks gibt eine Sicherheit, dass es nicht zur Verwechslung verschiedener Spezies kommen kann. Es ist möglich, mit dieser Methode kurzfristig ein Screening auf Problemkeime aufzubauen. Bei Betrachtung einer ausreichenden Anzahl Cluster ist eine sichere Differenzierung zwischen den verschiedenen Keimen möglich (Abb. 4). Die chemische Identität der gemessenen VOC muss dazu nicht bekannt sein.

Für die bakteriologische Diagnostik an sich sind erhebliche Kosten- und Zeitersparnis möglich.

Lit.:

- [1] T. Räßler, Masterarbeit 2015; Hochschule Mittweida
- [2] R. Purkhart, A. Hillmann, R. Graupner, G. Becher: Detection of characteristic clusters in IMS-Spectrograms of exhaled air polluted with environmental contaminants. IJMS, Feb. 2012 (DOI 10.1007/s12127-012-0090-4)