

Zeit für einen Paradigmenwechsel!

Warum die Mikrobiologie dringend ein Umdenken benötigt

Von Dr. Jiri Snaidr

Neugeborene Babys erkranken und sterben durch bakterielle Infektionen. Ein bedauerlicher Einzelfall? Der aktuelle Fall, der sich in der Mainzer Universitätsklinik abspielte und auf kontaminierte Infusionen zurückzuführen ist, zeigt wieder einmal auf dramatische Art und Weise, wie groß der Rückstand der Menschen im Wettlauf mit den Bakterien ist.

In den letzten 15 Jahren wurde mittels neuer, verzerrungsfreier und molekularer Verfahren ersichtlich, dass tatsächlich nur ein kleiner Teil der Bakterien den Mikrobiologen auch bekannt ist. Die große Mehrheit aller Bakterien ist nach wie vor unbekannt und damit mit konventionellen Verfahren überhaupt nicht nachweisbar. So schätzt man, dass in Umweltproben oft mehr als 99% aller Bakterien noch unbekannt sind.

Zusätzlich zeigen Untersuchungen, dass die Diversität, also die Vielfalt innerhalb der mikrobiellen Welt, wesentlich höher ist, als noch vor Kurzem angenommen. Obwohl also erstens ein Großteil der Bakterien unbekannt ist und zweitens, es wesentlich mehr verschiedene Bakterienarten gibt als vor Jahren angenommen, wird auch heute noch zum Nachweis der Mikroorganismen die Kultivierung auf künstlichen Nährmedien als "Gold Standard" aus einer Zeit benutzt, in der man nicht im Entferntesten ahnte, welche Ausmaße das Bakterienreich tatsächlich haben könnte. Zudem ist dieser „Gold Standard“ auch deutlich langsamer als neuere zur Verfügung stehende Methoden.

Der veraltete "Gold Standard"

Die Anzucht von Bakterien auf künstlichen Nährmedien mittels Kultivierung ist seit weit über 100 Jahren der "Gold Standard" für den Nachweis von Bakterien. Trotz der bekannten Restriktionen fußen die meisten anerkannten Nachweisverfahren auf dieser Methode. Ein Gedankenspiel: Wären die heutigen modernen Nachweisverfahren der "Gold Standard" und müsste sich die Kultivierung dagegen behaupten - sie hätte nicht den Hauch einer Chance. Warum nicht? Erstens setzt die Kultivierung darauf, dass die Bakterien auf einem künstlichen Nährmedium zum Wachsen gebracht werden, was nur in den wenigsten Fällen gelingt und zweitens fördert sie grundsätzlich das Phänomen des "Populationsdruckes". Eine an das Medium angepasste Bakteriengruppe wird besser wachsen als eine Unangepasste. Letztere wird also von der besser angepassten Bakteriengruppe auf diesem Medium

„überwachsen werden und damit möglicherweise nicht entdeckt werden. Und selbst wenn die Bakterien auf dem Medium gewachsen sind, so bedarf es drittens immer noch weiterer Bestätigungsverfahren, um die Identität des Bakterium zweifelsfrei festzustellen. Die Methode der Kultivierung ist daher ungenau, unzureichend und dazu auch noch zu langsam, um eine umfassende echte mikrobiologische Sicherheit bieten zu können.

Der Fokus auf "Pathogene/Indikatorkeime" schränkt die Sicherheit oftmals ein

Aber nicht nur die Methode, sondern auch die Systematik von mikrobiellen Untersuchungen muss geändert werden. In der Regel werden aufgrund der Limitierungen der angewandten kulturellen Nachweismethoden Proben nur auf bestimmte Bakterien untersucht. Entweder werden pathogene, also krankheitserregende Bakterien getestet oder es wird auf sogenannte Indikatorkeime untersucht, also Bakterien, die auf das Vorhandensein von anderen, meist wesentlich gefährlicheren Bakterien hindeuten. Werden trotzdem allgemeine Untersuchungen auf das Vorhandensein von Bakterien durchgeführt (Gesamtkeimzahlen), so basiert auch diese Nachweismethode meist auf der Kultivierung der Bakterien auf allgemeinen Nährmedien. Ein negatives Ergebnis zeigt hier prinzipiell nur an, dass auf diesem speziellen Medium keine Bakterien zum Wachsen gebracht werden konnten. Ob aber trotzdem „unkultivierbare“ lebende Keime vorhanden sind, wird nicht beantwortet. Eine sichere Keimfreiheit ist hiermit somit nicht zweifelsfrei zu attestieren.

In der Standard-Mikrobiologie ist leider über die Jahrzehnte schon eine derartige Routine eingekehrt, dass nur wenige den "Gold Standard" und den Ansatz der Analyse der "Pathogenen/Indikatorkeime" in Frage stellen. Mit etwas Abstand betrachtet, verwundert es, warum in bestimmten sensiblen Bereichen nicht versucht wird, über möglichst verzerrungsfreie und sichere Methoden „ergebnisoffen“ zuerst alle lebensfähigen Bakterien zu erfassen, ohne zu wissen wie sie heißen, um diese ggf. in einem nachfolgenden Schritt näher zu untersuchen.

Die FISH-Methode

In der Pharmacopoea Europaea, dem europäische Arzneibuch ist aber bereits eine Alternativmethode anerkannt und verankert, die eben genau diese Vorgehensweise ermöglicht: die FISH-Methode.

Die Pharmacopoea Europaea umfasst anerkannte pharmazeutische Regeln über die Qualität, Prüfung, Lagerung und Bezeichnung von Arzneimitteln und die bei ihrer Herstellung und Prüfung verwendeten Stoffe, Materialien und Methoden. Die Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung, kurz FISH genannt, ist eine anerkannte Methode zum Nachweis von bekannten und unbekanntem Mikroorganismen. Sie basiert auf der Tatsache, dass in 3,5 Milliarden Jahren der mikrobiellen Evolution jedes Bakterium Bereiche in seiner Nukleinsäure herausgebildet hat, die spezifisch für die einzelne Art, für eine Gattung oder für

eine ganze Gruppe von Bakterien sind. Für diese spezifischen Segmente können Gensonden entwickelt werden. Das sind kleine Stücke künstlicher Erbsubstanz, die mit einem Farbstoff gekoppelt in die Bakterien geschickt werden. Finden diese Gensonden in den Bakterien die spezifischen Segmente, so bleiben sie daran haften und halten dadurch auch den Farbstoff in der Zelle: Das Bakterium beginnt zu leuchten.

Auf diese Weise können sowohl unbekannte Bakterien nachgewiesen werden, wie auch bekannte Bakterien zweifelsfrei und hochspezifisch identifiziert werden. Diese Methode benötigt weder eine Kultivierung noch die Isolierung von Zellbestandteilen. Im Gegenteil: Durch das spezifische Sichtbarmachen der gesamten und intakten Zelle, können die Mikroorganismen eindeutig und direkt am Ort ihres Wirkens nachgewiesen werden. Ein solcher Nachweis würde nicht einmal 3 Stunden dauern. Das klassische Kultivierungsverfahren hingegen benötigt meist mindestens 48 h, bis das Ergebnis vorliegt.

Weitere moderne Methoden der Mikrobiologie, wie die Analyse von Adenosintriphosphat (ATP), immunologische Verfahren oder die Polymerase Chain Reaction (PCR) versuchen ebenfalls die Unzulänglichkeiten der konventionellen Kultivierungsmethode zu beheben. Sie leiden jedoch selber noch unter Nachteilen, die wiederum eine Verfälschung der Untersuchungsergebnisse zur Folge haben. So kann bei der Anwendung der PCR i.d.R. nicht unterschieden werden, ob das Ergebnis von einer lebenden Zelle stammt oder nur von einer toten Zelle oder gar von in der Probe freiliegender Nukleinsäure. Die PCR benötigt die vorherige fehlerfreie Isolation von Nukleinsäuren und ist nicht robust genug, um bei ständig wiederkehrenden identischen Analysen verlässliche Untersuchungsergebnisse liefern zu können.

VIT - die industrialisierte und standardisierte FISH

Die vermicon AG hat bereits vor weit über einem Jahrzehnt das Potenzial der FISH-Technologie erkannt und gilt weltweit als Spezialist für deren Einsatz im industriellen Umfeld. Seit der Gründung des Unternehmens im Jahre 1997, wurde die FISH-Technologie konsequent weiterentwickelt und unter dem eigenen Markennamen VIT (vermicon identification technology) vermarktet. VIT ist die industrialisierte und standardisierte Form von FISH. Die vermicon AG vereint ausgewiesene Experten aus dem Gebiet der FISH-Technologie und hält zahlreiche Patente auf die Methode. Das Unternehmen konnte in dem vergangenen Jahrzehnt beweisen, dass der Einsatz von FISH die Qualität des mikrobiologischen Nachweises auf einen neuen Level hebt.

Solange nicht ein echter Paradigmenwechsel in der Mikrobiologie stattfindet, wird es weiterhin Krankheits- und Todesfälle wie in der Mainzer Universitätsklinik geben. Erst wenn die regulierenden

Behörden und industriellen Verantwortlichen einen radikalen Umbruch in der Mikrobiologie zulassen, können neue Methoden wie die FISH-Technologie flächendeckend ihren Weg in die industrielle mikrobiologische Praxis finden und mikrobielle Diagnostik nicht nur verändern, sondern nachhaltig sicherer machen.

Der Autor dieses Artikel ist Gründer und Vorstandsvorsitzender der vermicon AG aus München. Die vermicon AG ist der innovative Lösungsanbieter für mikrobiologisch induzierte Fragestellungen im industriellen Bereich. Sowohl mit eigens entwickelten als auch mit konventionellen Technologien nimmt die vermicon AG mikrobiologische Herausforderungen an und löst diese zur vollsten Zufriedenheit ihrer Kunden. Außer dem breiten Portfolio an Dienstleistungen, Consultingangeboten und individuellen Lösungsansätzen bietet das Unternehmen auch Testkits für Mikroorganismen. Die patentierte VIT®-Gensondentechnologie gibt es seit 2001 im standardisierten und industrialisierten Format als Schnellnachweissysteme in Form von praktischen VIT-Kits.

Kontakt:

vermicon AG

Emmy-Noether-Str. 2
D-80992 München

info@vermicon.com
www.vermicon.com