

Identifikation gramnegativer harnwegs-pathogener Enterobacteriaceae und Nonfermenter mit dem RAS-ID-Gram^{neg}

Identification of Gram Negative Uropathogenic Enterobacteriaceae and Non-Fermenter with the RAS-ID-Gram^{neg}

E. Friesenhahn, M. Weindel, B. Weber, V. Schäfer, H. W. Doërr
Zentrum der Hygiene der Universitätskliniken, Frankfurt

Zusammenfassung:

Insgesamt 311 Stämme gramnegativer harnwegspathogener Enterobacteriaceen und Nonfermenter, davon 200 Isolate aus frischem Urin der täglichen Routine und 111 ausgewählte, bezüglich ihrer Identifikation problematische Keime aus der Stammsammlung des Zentrums der Hygiene, Frankfurt/Main, wurden mit den Systemen RAS-ID-Gram^{neg}, und API 20 E bzw. NE, vergleichend getestet. Das RAS-ID-Gram^{neg}-System benutzt 10 biochemische Reaktionen zur Identifizierung gramnegativer Bakterien sowie 10 Chemotherapeutika zur Resistenzbestimmung. Von den 200 Routinestämmen zeigten 196 (98%), von den 111 Stämmen aus der Stammsammlung 98 (88,3%) Übereinstimmung. Die gute Übereinstimmung und die schnelle und einfache Handhabung läßt das RAS-ID-Gram^{neg}-System für die Identifizierung harnwegs-pathogener Routinekeime als kostengünstige Alternative zu anderen aufwendigeren Identifizierungssystemen erscheinen.

Schlüsselwörter:

RAS-ID-Gram^{neg} – harnwegspathogene Enterobacteriaceae – Nonfermenter

Summary:

A total number of 311 gram-negative uropathogenic enterobacteriaceae and non-fermenter were tested in a comparative study applying two different tests system (RAS-ID-Gram^{neg}, and API 20 E respectively API NE). Two hundred probes were routine isolates from fresh urine, 111 probes were selected bacteria from the culture collection of the Center of Hygiene, Univ.-Clinics of Frankfurt a. M., which proved difficult to identify. The RAS-ID-Gram^{neg}-system relies on 10 biochemical reactions for the identification of gram negative bacteria and 10 antimicrobial agents for susceptibility testing. 196 (98%) of the 200 routine strains and 98 (88,3%) of the 111 strains from the culture collection showed concording results. Results obtained with the RAS-ID-Gram^{neg} for the identification of routine uropathogenic germs predisposes it to be a less expensive alternative to more sophisticated identification systems.

Keywords:

RAS-ID-Gram^{neg} – uropathogenic enterobacteriaceae – non-fermenter

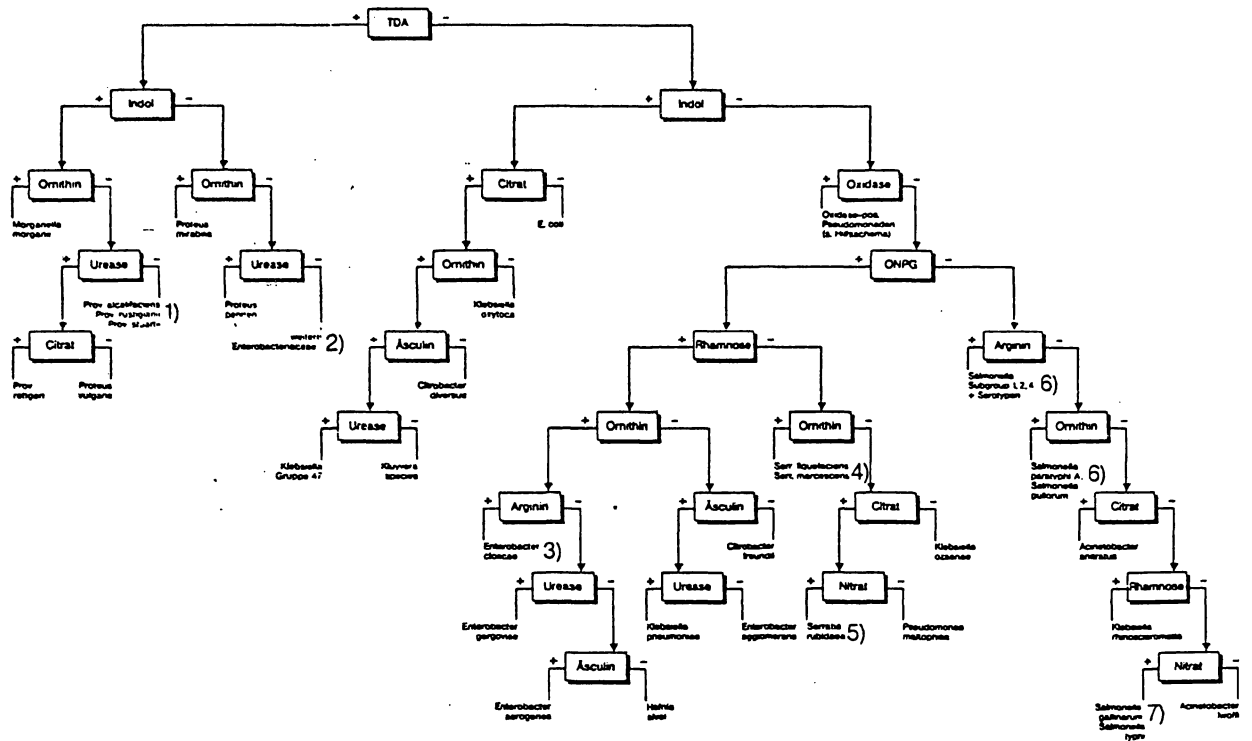
Einleitung

Ein beträchtlicher Teil der täglichen Routineuntersuchungen im mikrobiologischen Laboratorium entfällt auf das Anlegen und Verarbeiten von Urinkulturen. Hier bringt ein einfach zu handhabendes und kostengünstiges Identifizierungssystem wünschenswerte Vorteile. Das Biotest RAS-ID-Gram^{neg}-System ist ein gebrauchsfertiges System zur Identifikation und Resistenzbestimmung gramnegativer harnwegspathogener Bakterien in einem Arbeitsgang. Das System wird tiefgefroren in Mikrotitrationsplatten geliefert, die ihrerseits aus 24 Nöpfchen bestehen, davon 8 Nöpfchen mit 10 biochemischen Reaktionen und 15 Nöpfchen mit 5 Chemotherapeutika in zwei Konzentrationen und 5 Chemotherapeutika in einer Konzentration sowie einem Nöpfchen für die Wachstumskontrolle. Wir haben das System sowohl in der Routine als

Tab. 1: Ablesung der biochemischen Reaktionen

Test	Zugabe von Reagenz	Positiv	Negativ
TDA	+ TDA-Reagenz	hellbraun dunkelbr.	farblos farblos
Indol ¹ ONPG Nitrat ²	Nitrat I + Nitrat II (ggf. Zink)	rot gelb rot (farblos)	farblos farblos farblos (rot)
Citrat Arginin Ornithin Uréase Rhamnose Äskulin- Hydrolyse		blau blau blau blau gelb dunkelbr.	grün gelb bis grün gelb bis grün gelb bis grün orange bis rot hellbraun

¹ im TDA-Nöpfchen
² im ONPG-Nöpfchen



Tab. 2: Auswertungsschema zur Identifizierung harnwegspathogener Enterobacteriaceae und Nonfermenter

auch an ausgewählten Keimen, die bezüglich ihrer Identifikation problematisch sind, getestet und mit dem API 20 E bzw. NE von Bio Merieux verglichen.

Material und Methoden

Insgesamt wurden 311 Stämme gramnegativer harnwegspathogener Enterobacteriaceen und Nonfermenter getestet. 200 Isolate stammten aus Urinkulturen der täglichen Routine, 111 weitere Stämme wurden der Stammsammlung unseres Institutes entnommen. Die Keime wurden auf Reinheit überprüft und mit dem API 20 E bzw. NE-System identifiziert. Die tiefgefrorenen Platten werden 30 Minuten vor Gebrauch bei Raumtemperatur (bzw. 15–20 Minuten im Brutschrank) aufgetaut. Mit steriler Kochsalzlösung wird zunächst eine Keimsuspension (McFarland 0,5) hergestellt, aus der die endgültige Inokulum suspension durch Verdünnung (1:20) mit der mitgelieferten Inokulum-Verdünnungslösung (steriles, deionisiertes Wasser + 0,02 % Tween 80) bereitet wird. Unter Verwendung der speziell entwickelten Inokulum-Schale mit Einweg-Inokulator werden sämtliche Nöpfchen in einem Arbeitsgang beimpft. Nach einer Inkubationszeit von 18 Stunden, wenn die Wachstumskontrolle deutliches Wachstum (Trübung oder Knöpfchenbildung) zeigt, werden die einzelnen Reaktionen wie in Tabelle 1 abgelesen.

Ergebnisse

Von den 200 Stämmen der täglichen Routine zeigten 196 (98 %) Übereinstimmung mit dem API 20 E bzw. NE, 4 Stämme (*Enterobacter intermedium*, *Acinetobacter anitratus*, *Hafnia alvei* und *Pseudomonas stutzeri*) wurden unterschiedlich identifiziert (Tab. 3). Von den 111 ausge-

wählten Keimen der Stammsammlung zeigten 98 (88,3 %) Übereinstimmung bei beiden Systemen, 13 Stämme (*E. coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter intermedium*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Kluyvera spec.*, *Salmonella gallinarum*, *Serratia odorifera*, *Pseudomonas picketti*, *Pseudomonas diminuta*, *Pseudomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophilia* und *Glucose* nicht fermentierende Stäbchen) wurden unterschiedlich identifiziert (Tab. 4 a, b). Die Anzahl der einzelnen identifizierten Stämme sowie die Abweichungen zeigen die Tabellen 3, 4 a und 4 b.

Diskussion

Mit Übereinstimmungen mit dem API E bzw. NE von 98 % bei den Routinekeimen und 88 % bei den ausgesuchten Problemkeimen stellt sich das RAS-ID-Gram[®] System im Vergleich zu ähnlichen Untersuchungen im internationalen Schrifttum als hinreichend zuverlässiges Identifizierungssystem auf gramnegative harnwegspathogene Enterobacteriaceae und Nonfermenter dar (1–6).

Da bei nicht hospitalisierten Patienten mit Harnwegsinfektionen seltene Enterobacteriaceae, wie sie von uns zum Teil ausgewählt wurden, eine untergeordnete Rolle spielen, ist eine Übereinstimmung von 88 % als jederzeit tolerabel anzusehen.

Der für das System gewählte reduzierte Reihenverdünnungstest (Breakpoint-Methode mit 1 oder 2 Konzentrationen) für die Empfindlichkeitsprüfung ist für ein schnelles Identifikationssystem die akzeptabelste Methode zur halbquantitativen Resistenzbestimmung. Die einfache Handhabung und die leichte Ablesbarkeit der einzelnen Reaktionen lassen das System neben einem günstigen Analysenpreis als Alternative zu anderen aufwendigeren Testkits für die tägliche Routinebestimmung erscheinen.

Tab. 3: API E bzw. API NE und RAS-ID-Gram^{neo} im Vergleich bei Enterobacteriaceae und Nonfermenter aus der täglichen Routine

API	Biotest RAS-ID	E. coli	Prot. mirabilis	Prot. vulgaris	Prot. penneri	Kl. pneumoniae	Kl. oxytoca	Serr. marcescens	Prov. stuartii	Morg. morganii	Citr. freundii	Citr. diversus	Hafnia alvei	Ent. cloacae	Ent. aerogenes	Ps. aeruginosa	Ps. stutzeri	Acin. Iwoffii	Acin. anitratus	Total	
E. coli		98																			98
Prot. mirabilis			31																		31
Prot. vulgaris				3																	3
Prot. penneri					1																1
Kl. pneumoniae						12															12
Kl. oxytoca							8														8
Serr. marcescens								4													4
Prov. stuartii									1												1
Morg. morganii										1											1
Citr. freundii											1										1
Citr. diversus												1									1
Hafnia alvei													-								0
Ent. cloacae														14							14
Ent. aerogenes															2						2
Ent. intermedium*)													2								2
Ps. aeruginosa																13					13
Ps. stutzeri																	-				0
Acin. Iwoffii																			4		4
Acin. anitratus																		1	1	2	4
Total		98	31	3	1	12	8	4	1	1	1	1	2	14	2	13	1	5	2		200

*) auf der RAS-ID-Tabelle nicht vorhanden

Tab. 4b: Fortsetzung von Tabelle 4a

API	Biotest RAS-ID	Ps. aeruginosa	Ps. putida	Ps. stutzeri	Ps. cepacia	Ps. putrefaciens	Ps. testosteroni	Ps. picketti	Ps. diminuta	Ps. maltophilia	Acin. anitratus	Acin. Iwoffii	Aerom. hydrophilia	E. coli	Salm. gallinarum	Total
Ps. aeruginosa		6														6
Ps. putida			4													4
Ps. stutzeri				2												2
Ps. cepacia					2											2
Ps. putrefaciens						1										1
Ps. testosteroni							1									1
Ps. picketti								-								0
Ps. diminuta									-							0
Ps. maltophilia					1					-	1				1	3
Acin. anitratus											2					2
Acin. Iwoffii												1				1
Nonfermenter ¹								1	1		1					3
Aerom. hydrophilia													-	1		1
E. coli														-		0
Salm. gallinarum															-	0
Total		6	4	2	3	1	1	1	1	0	4	1	0	1	1	26

¹ Glucose nicht fermentierende Stäbchen, Spezies nicht zu identifizieren

Tab. 4a: API E und RAS-ID-Gram[®] im Vergleich bei schwer identifizierbaren Enterobacteriaceae aus der Stammsammlung

Biotest RAS-ID	Ent. aerogenes	Ent. agglomerans	Ent. cloacae	Ent. inter- medium	Citr. freundii	Citr. diversus	Salm. species	Salm. para- typhi A	Kl. oxytoca	E. coli	Hafnia alvei	Prov. rettgeri	Prov. stuartii	Prov. alkali- faciens	Prot. vulgaris	Prot. penneri	Prot. mirabilis	Morg. morganii	Hafnia alvei	Serr. lique- faciens	Serr. rubidaea	Serr. odorifera	Kluyvera spec.	Total
API																								
Ent. aerogenes	8																							8
Ent. agglomerans		4																						5
Ent. cloacae			4																					4
Ent. intermedium				1)							1													1
Citr. freundii					6				1															7
Citr. diversus						4																		4
Salm. species							4																	4
Salm. paratyphi A								2																2
Kl. oxytoca									2															2
E. coli									2	1														3
Hafnia alvei																								0
Prov. rettgeri												11												11
Prov. stuartii													3											3
Prov. alkalifaciens														3										3
Prot. vulgaris															8									8
Prot. penneri																1								1
Prot. mirabilis																	1							1
Morg. morganii																		8						8
Hafnia alvei																			3					3
Serr. liquefaciens																				5				5
Serr. rubidaea																						1		1
Serr. odorifera																							1	1
Kluyvera spec.																							-	0
Total	8	4	4	1)	6	4	4	2	6	1	1	11	3	3	8	1	1	8	3	5	1	0	1	85

*) auf der RAS-ID-Tabelle nicht vorhanden

Schrifttum:

- BURDASH, N., et al.: Evaluation of an Automated, Computerized System for Enterobacteriaceae Identification. J. Clin. Microbiol. 13-2, 331-334 (1981).
- COX, N. A., et al.: Selecting a Miniaturized System for Identification of Enterobacteriaceae. J. Food Prot. 47-1, 74-77 (1984).
- COX, N. A., et al.: Identification of Enterobacteriaceae from Foods with the Spectrum-10. J. Food Prot. 48-1, 76-79 (1985).
- D'AMATO, R., McLAUGHIN, J. C., FERRARO, M. J.: Rapid manual and Mechanized/automated methods for the detection and identification of bacteria and yeasts. In: Lennette, E. H.: Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, 52-65 (1985).
- v. GRAEVENITZ, A., ZOLLINGER-ITEN, J., MONGET, D.: RAPIDEC UR, a 2-h Miniaturized System for Pinpointing Uropathogens. J. Clin. Microbiol. 26-1, 151-152 (1988).
- HALSTEAD, D., HOFFERT, M., COLASANTE, G.: Pre-market Evaluation of IDS Rapid SS/u System for Identification of Urine Isolates. J. Clin. Microbiol. 25-1, 42-44 (1986).

Anschrift des Verfassers:

Dr. B. Weber
Zentrum der Hygiene der Universitätskliniken
Paul-Ehrlich-Straße 40
6000 Frankfurt a. M. 70

□