

Vergleich eines hochmechanisierten Systems zur Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien mit dem Agardiffusionstest (DIN 58940)

B. Schaper¹, H. Woratz²

¹ Interne Klinik im Krankenhaus Nordstadt/Hannover

² Institut für medizinische Mikrobiologie im Krankenhaus Nordstadt/Hannover

Zusammenfassung:

Zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit eines hoch mechanisierten Systems zur Empfindlichkeitsprüfung von schnellwachsenden Bakterien wurden 780 frisch isolierte Stämme vergleichend mit der Agardiffusionsmethode (DIN 58940) geprüft. Es wurde Übereinstimmung bzw. nur geringe Abweichung bei 89% und 99% der Keime in Abhängigkeit vom Antibiotikum und von der Keimspezies gefunden.

Die Vorzüge des Gerätes zeigen sich in erster Linie in der stärker standardisierten und reproduzierbaren Resistenzprüfung, sowie der schnelleren Befundausgabe.

Schlüsselwörter:

Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien – Turbidimetrische Messung – Agardiffusionstest – Mechanisierung in der Mikrobiologie

Summary:

For the evaluation of efficacy of a largely mechanized system for susceptibility testing of rapid growing bacteria 780 fresh isolates were compared by testing with our conventional method (DIN 58940). Total agreement or minor discrepancies were found in 89%-99% of these strains depending on the type of the antibiotic substance or of the species of bacteria.

The advantages of the system have to be seen at first in the improved standardization and reproducibility of the susceptibility testing and also in a more rapid reporting of the test results.

Keywords:

Susceptibility testing of bacteria – Turbidimetric measurement – Agar dilution method – Automation in microbiology

Einleitung

Die Trübung der Nährösungen durch schnellwachsende Bakterien bildet die Grundlage der Anwendung turbidimetrischer und nephelometrischer Meßverfahren in der Bakteriologie.

Derartige photometrische Untersuchungen sind in der experimentellen Bakteriologie schon seit Jahrzehnten bekannt. Eine der frühesten Veröffentlichungen hierüber stammt von Alper und Sterne aus dem Jahre 1933 (1). Weitere theoretische und experimentelle Hinweise wurden u. a. in den Arbeiten von Norris (2), Kavanagh (3) und Meynell (4) gegeben. 1970 beschrieb Cobb ein Nephelometer, mit dem 12 Bakterienkulturen in ebensoviele Meßkammern unabhängig voneinander in ihrem Wachstumsverhalten beobachtet werden konnten (5). Von Bergan wurde 1975 ein ähnliches Verfahren (6) zur intermittierenden Trübungsmessung in zwölf Küvetten angegeben.

In den letzten Jahren entstanden eine ganze Reihe mehr oder weniger mechanisierter Analysengeräte zur Resistenzprüfung schnellwachsender Keime. Eine Übersicht über den derzeitigen Stand der Mechanisierung im Laboratorium für klinische Mikrobiologie vermittelt eine

gleichnamige Arbeit von Morello (7). Als neuester und wohl am weitesten entwickelter Vertreter dieser Gerätekategorie wird hier der Cobas Bact* vorgestellt. Seine Arbeitsweise wird beschrieben und die wichtigsten Schritte bei der Eingliederung des Gerätes in die tägliche Routine eines mittelgroßen bakteriologischen Labors geschildert.

Material und Methodik

Kurzbeschreibung des Analysators und der Zubehörteile

Der Cobas Bact ist ein weitgehend mechanisiertes Analysegerät zur Erstellung von Antibiogrammen binnen 5 Std. für die schnellwachsenden aeroben Routinekeime.

Das gesamte System besteht aus dem Gerät, einen Dispenser für Antibiotika-Testblättchen, Testrotor, Testblättchen und kleineren Zubehörteilen.

Für die Testung finden jeweils 16 mit Antibiotika beladene Testblättchen Einsatz, die durch die mit den Teststämmen inkulkierte Bouillon in separaten radial angeordneten Kü-

* Hersteller: Hoffmann-La Roche AG

vetten eluiert werden. In Abhängigkeit von der Empfindlichkeit des eingebrachten Teststammes gegen das in der Bouillon gelöste Antibiotikum entsteht bei Resistenz des Keimes eine starke Trübung, bei Empfindlichkeit eine geringe oder keine Trübung, die photometrisch bei 546 nm im Abständen von 20 min registriert wird.

Das Gerät selbst besteht aus Meßteil, Kontrollteil und Gehäuse. Der Meßteil enthält einen Inkubator mit Heizung und Gebläse, ein Filterphotometer zur Messung bei 430, 464, 546 und 605 nm, ein Xenonblitzlicht sowie eine Zentrifuge. Der Inkubator mit einer Kapazität für 50 Proben enthält Heizung und Gebläse sowie ein Transportsystem für die in Rotoren befindlichen Proben. Die Temperaturnauigkeit beträgt 1°C im Bereich zwischen 35° und 45°C. Zusätzlich kann der Inkubator durch ein Programm für die Desinfektion vegetativer Keime auf 80°C aufgeheizt werden. Rotoreingabe und Rotorauswurf erfolgen durch ein entsprechendes Transportsystem, das auch die Rotoren im Inkubator mittels eines paternosterähnlichen Mechanismus bewegt. Der elektronische Teil des Gerätes enthält Programme

- zur Ansteuerung und Überwachung der mechanischen Funktionen sowie der Inkubationstemperatur,
- zur Meßsignalverarbeitung und Speicherung,
- zur Berechnung der Antibiogramme,
- zur Kontrolle des Dialogs mit dem Benutzer über das Tastenfeld,
- zur Befundausgabe über den Thermodrucker bzw. zur Übertragung der Daten über ein bidirektionales Interface, das gleichzeitig eine externe Ansteuerung des Cobas Bact ermöglicht.

Der Dispenser ist eine Apparatur zur Beschickung der Rotoren mit Antibiotika-Testblättchen und zum Verschluß der Einfüllöffnungen mit einem Zapfenring. Ferner gehören zur Geräteausstattung Kartuschenhalter zur Aufnahme der Testblättchen-Patronen, Rotor- und Zapfenspender und Rotorengestelle.

Der Testotor wird in Abb. 1 dargestellt. Er ist eine runde Kunststoffscheibe von 9 cm Durchmesser mit 17 peripher

gelegenen Meßküvetten. Davon sind 16 Küvetten mit der zentralen Probenkammer verbunden. Zur Aufnahme der verschiedenen Antibiotika-Testblättchen haben diese 16 Küvetten Öffnungen, die nach Beschickung mit einem Zapfenring verschlossen werden. Die 17. Meßküvette ist zur Messung gegen Luft offen. Der zentrale Raum ist an der Oberseite des Rotors offen und ermöglicht das problemlose Einfüllen von 5 ml Inokulum. Nach Eingabe des Inokulums wird diese Öffnung mit einem Klebeetikett verschlossen, das zugleich die Identifizierung des Rotors und der Probe ermöglicht.

Die Testdurchführung

Die Ausführung der Empfindlichkeitsprüfung mit dem Cobas Bact lässt sich aus praktischen Gründen in zwei Arbeitsschritte unterteilen:

1. Rotorvorbereitung
2. Ladevorgang, Meßzyklen und Auswertung.

Rotorvorbereitung

Die Qualität der Untersuchungsergebnisse hängt ganz erheblich von der Sorgfalt während der manuellen Rotorvorbereitung ab. Die einzelnen Arbeitsschritte werden daher kurz beschrieben.

Für die Beschickung der Rotoren mit dem Inokulum wird vom Hersteller folgendes Vorgehen angegeben:

Ausgehend von Einzelkolonien in Reinkultur auf festem Nährboden wird in ca. 2 ml Bouillon (Cobas Bact Broth) eine homogene Suspension hergestellt. Ihre Trübung entspricht der des Trübungsstandards 0,5 nach Mc Farland und beruht auf der Anwesenheit von ca. 10^6 Bakterien pro ml.

100 µl dieser Suspension werden in die zentrale Öffnung des Rotors pipettiert. Es werden 5 ml Cobas Bact Broth zugefügt und man verschließt den Rotor mit dem beschrifteten Klebeetikett.

Der Zeitraum zwischen der Herstellung des Inokulums und der Eingabe des gefüllten und verschlossenen Rotors in den Analysator sollte möglichst konstant gehalten werden. Aus organisatorischen Gründen haben wir eine Zeit von maximal 15 min festgelegt, in der die Bouillon in den zentralen Raum des vorher mit Testblättchen beschickten Rotors überführt wird. Da sich die Testblättchen in den Außenkammern des Rotors befinden, kommt es noch nicht zum Kontakt zwischen Keim und Antibiotikum. Nach Verschluß und Beschriftung der Rotoren werden diese mit kleinen Trägergestellen zum Analysator getragen. Eine räumliche Nachbarschaft zwischen dem eben beschriebenen Arbeitsplatz und dem Cobas Bact ist nicht erforderlich.

Die tatsächlich benötigte Zeit für die vollständige Vorbereitung und Füllung eines Rotors sowie der noch zu beschreibende Ladevorgang beträgt in größeren Serien weniger als 1 min. Der Zeitaufwand kann noch weiter gesenkt werden, wenn die Antibiotikabeschickung der Rotoren nicht bei aktuellem Bedarf geschieht, sondern jeweils portionierte Mengen von bereits vorbereiteten Rotoren zusammen mit einem Trockenmittel in Plastikbeuteln eingeschweißt und kühl (2°–8°C) als Vorrat gelagert werden. Diese Methode ist besonders dann zu empfehlen, wenn der Inhalt einer Ladekartusche nicht innerhalb eines oder weniger Tage verbraucht wird.

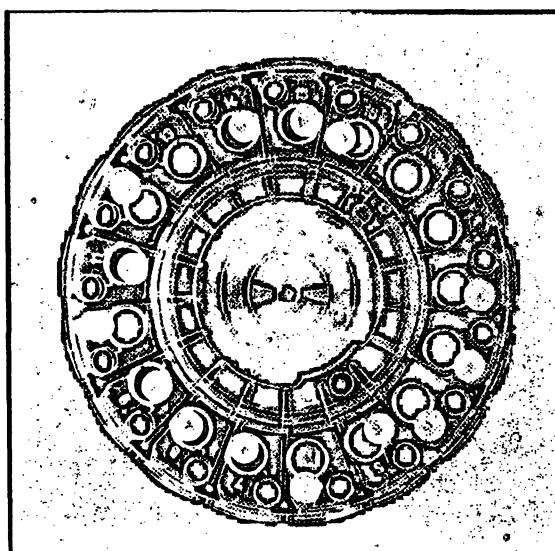


Abb. 1: Testotor mit 15 Testküvetten (mit Testblättchen beschickt)

Ladevorgang, Meßzyklen und Auswertung

Der Ladevorgang ist die letzte manuelle Tätigkeit des Benutzers am Cobas Bact. Von hieran erfolgt die Inkubation und Messung der Bouillonkultur, den Blicken des Beobachters entzogen, im Gerätinnern. Die Testpalette der zu untersuchenden Antibiotika ist im Computer des Gerätes zusammengestellt und abgespeichert worden. Es ist darauf zu achten, daß das Programm und Bestückung des Dispensers mit den Diskkartuschen übereinstimmt. Für die Testung stehen zur Zeit 26 Antibiotika aus verschiedenen Wirkstoffgruppen zur Verfügung (Tab. 1). Damit können bis zu 15 verschiedene keim- oder indikations-spezifische Antibiotika-Arrangements vom Benutzer selbst zusammengestellt und abgespeichert werden.

Von großer Bedeutung ist die vorab vorgenommene Einteilung der zu untersuchenden Bakterienstämme in gram-positiv, gramnegativ und Pseudomonas. Diese Information wird dem Rechner beim Ladedialog ebenfalls mitgeteilt, da die Auswerteprogramme bei diesen drei Gruppen spezifische Unterschiede aufweisen. Eine maximal 10stellige Identifikationsnummer wird für den Rotor (=Probe bzw. Patient) eingegeben. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, eine sogenannte Informationsnummer zu speichern, die eine weitere Information zur Probe oder zum Patienten enthält. Bei uns hat es sich bewährt, die mit dem Cobas Bact zu untersuchenden Keime oder Keimgruppen mit Ziffern zu kodieren und so die Keimdiagnose bei allen Zwischen- und Endresultaten mit ausdrucken zu lassen.

Nach Eingabe der Rotordaten wird der Rotor auf das Gerät gebracht und automatisch in den Inkubator gefahren. Hier verbleibt er, bevor er zur Zentrifugationsstelle

geführt wird. Durch eine dreistufige Zentrifugation (500 U/min; 850 U/min; 3000 U/min) wird das vorinkubierte Inokulum in die außenliegenden Küvetten mit den Testblättchen befördert und eluiert diese. Abschließend erfolgt die Messung der Anfangsabsorption (A_0) bei laufendem Rotor in allen Kammern bevor die Kultur für 20 min wieder in den Inkubator transportiert wird. Nach insgesamt 5 Std., das heißt 15 Meßzyklen im Abstand von jeweils 20 min wird der Rotor in den Abfallbehälter transportiert. Wenige Sekunden nach der letzten Messung erfolgt der Ausdruck des Antibiogrammes in Be fundform. Falls gewünscht, können auch alle 240 Absorptionswerte der Einzelmessungen oder deren Darstellung als Wachstumskurven für jedes Antibiotikum einzeln ausgedruckt werden. Die Abb. 2 zeigt die Trübungsentwicklung in einer Rotorküvette mit *Escherichia coli* in Anwesenheit von Nitrofurantoin im Vergleich zur wirkstofffreien Küvette der Wachstumskontrolle. Die Trübungsentwicklung kann auch schon während der fünf stündigen Meßzeit für jede Kammer eines beliebigen Rotors mitverfolgt werden, indem die reinen Absorptionsmeßdaten oder ihre Darstellung als Wachstumskurve ausgedruckt werden, jeweils das betreffende Antibiotikum im direkten Vergleich zur wirkstofffreien Kontrolle.

In die Beurteilung der Empfindlichkeit eines Erregers gehen sowohl allgemeine Wachstumscharakteristika wie auch die aktuellen Meßdaten für den einzelnen Stamm ein. Die Grenzwerte für die Beurteilung der Empfindlichkeit des Erregers entsprechen nationalen bzw. internationa len Normen der Agardiffusionstestung (DIN bzw. NCCLS).

Auf dem Antibiogrammausdruck wird der Keim als sensibel (=s), mäßig sensibel bzw. intermediär (=i) oder resistent (=r) ausgewiesen.

Tab. 1: Derzeitiger Stand der auf dem Gerät adoptierten Substanzen (April 1984)

Name	Beladung µg/Disk.
Amikacin	3,0
Amoxicillin	1,5
Ampicillin	2,0
Azlocillin	4,0
Carbenicillin	10,0
Cefamandol	3,0
Cefotixin	3,0
Cefuroxim	3,0
Cephalotin	1,0
Chloramphenicol	1,5
Clindamycin	0,4
Colistinsulfat	3,2
Cotrimoxazol	16,0
Erythromycin	1,0
Gentamicin	1,0
Kanamycin	3,0
Methicillin	1,5
Mezlocillin	4,0
Nalidixinsäure	5,0
Neutimycin	3,0
Nitrofurantoin	4,0
Oxacillin	1,5
Penicillin G	0,05
Piperacillin	4,0
Tetracyclin	3,0
Tobramycin	1,0
Vancomycin	2,0

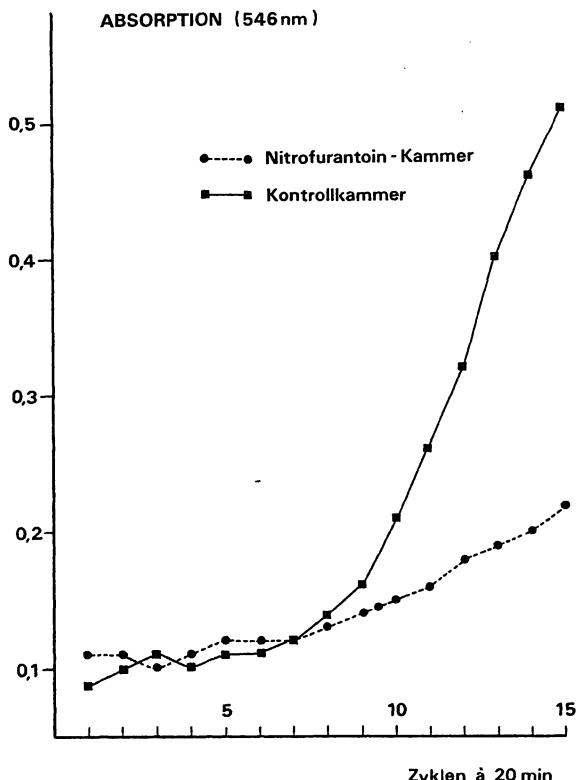


Abb. 2: Darstellung der Meßdaten als Wachstumskurven

Die Aufnahme neuer Antibiotika kann mitunter erst nach einer gewissen Latenzzeit erfolgen (9, 10), da oft offizielle Beurteilungskriterien für Neueinführungen (Breakpoints) fehlen. Zur Überbrückung dieser Wartezeit bieten sich Beurteilungsmöglichkeiten mit Hilfe der „FREE-Programms“ an. Damit steht dem Benutzer eine Programmiermöglichkeit zur Verfügung, bei der er Meßzyklen, Temperatur, Wellenlänge des zu messenden Lichtes und verschiedene Zentrifugierprogramme in relativ weiten Grenzen selbst bestimmen kann. Bei der Vielfalt der Variationsmöglichkeiten ist jedoch keine geräteinterne Berechnung des Antibiotigrammes möglich. Die Auswertung kann aber anhand der Rohdaten manuell oder über ein on-line-gekoppeltes Rechnersystem (z. B. Apple 2E) geschehen. Grundvoraussetzung ist jedoch, daß eine definierte Konzentration des zu testenden Antibiotikums in die Meßkammer gegeben wird und daß eine Referenzmethode zur Eichung des Analysensystems zur Verfügung steht. Die tatsächliche Fülle der Anwendungsmöglichkeiten der freien Programmierung kann hier nur angedeutet werden. Sie erschließt sich erst vollends dem täglich mit dem Gerät arbeitenden Benutzer.

Ergebnisse

Bis jetzt wurden in unserem Institut mehr als 2000 Bakterienkulturen im Cobas Bact getestet. 780 davon wurden parallel mit der herkömmlichen Agar-Diffusionsmethode nach DIN 58940 auf ihre Resistenz hin untersucht. Bei 10 bis 15 Antibiotika je Keim und insgesamt 7 getesteten Keimspezies bzw. Keimgruppen ergeben sich ca. 90 Vergleichspaare, die sich am übersichtlichsten in Form von 9-Tafel-Diagrammen darstellen lassen. Als Beispiel von vielen 9-Tafel-Diagrammen wurde die Testung aller 780 Stämme gegen Gentamycin ausgewählt (Abb. 3). Von diesen 780 in Doppelbestimmungen untersuchten grampositiven und gramnegativen Keimen stimmten 92% (N = 718) in der Aussage „sensibel“ überein. In 5% der Fälle (N = 38) ergab die Testung des Cobas Bact das Resultat „sensibel“, im Agardiffusionstest nach DIN 58940 „resistant“. In 2% (N = 16) würden die Stämme

im Gerät als „resistant“, im Agardiffusionstest indessen „sensibel“ beurteilt.

Diese Unterschiede in den Ergebnissen bei insgesamt 7% des Kollektivs stellen „große Abweichungen“ (Major discrepancies) dar, weil sie absolut konträre Aussagen treffen. Sie sind in der Grafik doppelt schraffiert dargestellt. In 1% (N = 8) der Fälle wurde turbidimetrisch die Empfindlichkeit als „intermediär“, im Agardiffusionstest als „sensibel“ ausgewiesen. Diese Unterschiede bei den Ergebnissen bezeichnet man als „kleine Abweichungen“ (Minor discrepancies), weil sie relativ nahe beieinander liegen und bei Interpretation durch den erfahrenen Kliniker zu keinen gravierenden Fehlschlüssen führen. Die turbidimetrische Untersuchung der Antibiotikaempfindlichkeit ist rationell nur bei schnellwachsenden, aeroben Keimen wie z. B. *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiellen*, *Enterobacter*, *Staphylokokken*, *Enterokokken* und *Pseudomonas* durchzuführen. Es ist derzeit nicht möglich, langsam wachsende Keime oder auch solche zu untersuchen, die besonders hohe Ansprüche an die Kulturbedingungen stellen. Andererseits stellen in einem klinik- oder praxisorientierten bakteriologischen Labor gerade die genannten Keime mindestens 80–90% des gesamten Untersuchungsmaterials. Es wurde deshalb im Rahmen dieser Studie weniger Wert auf die Beantwortung der Frage gelegt, bei welchen Keimen die Auswertung nicht möglich oder zumindest kritisch ist. Vielmehr sollte untersucht werden, ob bei den zuvor genannten Routinekeimen ein sinnvoller Einsatz des Analysengerätes in der täglichen Routine möglich ist.

Die Tab. 2 zeigt für das Gesamtkollektiv die Übereinstimmung, kleine Abweichungen und große Abweichungen der Ergebnisse beim Vergleich der turbidimetrischen Empfindlichkeitsprüfung mit dem Agardiffusionstest aufgegliedert nach den einzelnen Antibiotika. Berücksichtigt man nur die großen Abweichungen in diesem Methodenvergleich, so schneiden in der Beurteilung Gentamycin, Chloramphenicol, Penicillin G, Nitrofurantoin, Clindamycin, Erythromycin und Azlocillin mit 1–11% „echten“ Fehlern gut ab. Ampicillin, Cefuroxim, Mezlocillin, Amikacin und Cotrimoxazol zeigen in 18–22% sogenannte „große“ Abweichungen zwischen beiden Methoden.

Vergleicht man die Ergebnisse der Testung unabhängig vom einzelnen Antibiotikum und aufgegliedert nach Bak-

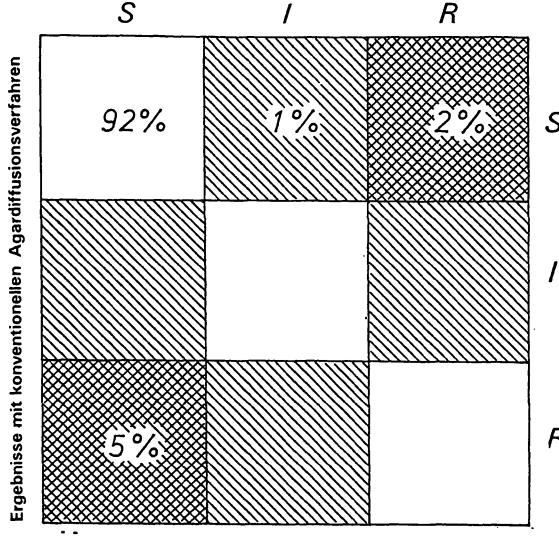


Abb. 3: Vergleich der Testmethoden bei der Empfindlichkeitsprüfung von 718 Stämmen gegen Gentamycin

Tab. 2: Vergleich der turbidimetrischen Empfindlichkeitsprüfung mit dem Agardiffusionstest aufgegliedert nach den eingesetzten antibakteriellen Substanzen

Antibiotikum	Übereinstimmung		Kleine Abw.		Große Abw.	
	%	N	%	N	%	N
Penicillin G	52	406	39	304	9	70
Ampicillin	65	507	13	101	22	172
Tetracyclin	81	632	2	16	17	132
Chloramphenicol	75	585	19	148	6	47
Nitrofurantoin	76	593	15	117	9	70
Cotrimoxazol	74	577	7	55	19	148
Gentamycin	92	718	7	54	1	8
Cefuroxim	72	561	6	47	22	172
Cefoxitin	82	640	5	39	13	101
Erythromycin	88	686	1	8	11	86
Clindamycin	82	640	9	70	9	70
Piperacillin	80	624	6	47	14	109
Mezlocillin	71	554	11	86	18	140
Azlocillin	72	562	19	148	9	70
Amikacin	81	632	1	8	18	140

Tab. 3: Vergleich der turbidimetrischen Empfindlichkeitsprüfung mit dem Agardiffusionstest aufgegliedert nach Bakteriengruppen

Keimgruppe	Übereinstimmung		Kleine Abw.		Große Abw.	
	%	N	%	N	%	N
Staphylokokken	82	640	11	86	7	54
Enterokokken	72	562	16	125	12	93
Coli-Gruppen	83	648	4	31	13	101
Pseudomonas	86	671	5	39	9	70
Proteus	59	460	19	148	22	172
Klebsiellen	70	546	7	55	23	179
Enterobacter	80	624	4	31	16	125

teriengruppen (Tab. 3), so schneiden die Staphylokokken und Pseudomonaden mit nur 7–9% „großen“ Abweichungen sehr gut, Proteus und Klebsiellen hingegen mit 22–23% schlecht bezüglich der Übereinstimmung beider Methoden ab.

Diskussion

In der weiteren Beurteilung der zuvor dargestellten Ergebnisse kommt man zwangsläufig auf die Frage nach dem „richtigen Wert“. Die Tabellen zeigen nur den Ausgang eines Vergleichs zweier sehr unterschiedlicher Testmethoden, von denen der turbidimetrischen Bestimmung durch den hohen Mechanisierungsgrad und die nur 5stündige Untersuchungsdauer die größere Reproduzierbarkeit zugestanden werden kann. Inwieweit der Zeitfaktor beim Vergleich einer „Fünfstunden-“ mit einer „Übernacht-Methode“ (16–14 Std.) bezüglich Stabilität der Antibiotika oder Resistenzentwicklung von Bakterien während der Inkubationszeit eine Rolle spielt, sei hier nicht weiter diskutiert. Einige der Ursachen für große Abweichungen, die durch den Cobas Bact bedingt waren, wurden in der Zwischenzeit durch Änderung der Berechnungsprogramme bzw. der Software behoben. Dies gilt für Abweichungen bei Penicillin G und Ampicillin sowie der Testblättchenbeladung bei Tetracyclin. Die Abweichungen bei Azlocillin und Mezlocillin werden derzeit überprüft.

Im Routineeinsatz zeigte sich der Cobas Bact als ein zuverlässiges und leistungsfähiges Gerät. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß ein erfolgreicher Einsatz keineswegs ohne die entsprechende mikrobiologische Erfahrung möglich ist. Während das Programmieren des Gerätes, sei es die Eingabe eines bestimmten Antibiotika-Arrangements oder der direkte Dialog mit dem Computer für die Eingabe der Rotoren in weniger als 1 Std. zu erlernen ist, bleibt die richtige Auswahl der relevanten Keime aus einer Reinkultur, die korrekte Herstellung des Inokulums und letztendlich die Interpretation des Antibiotogramms eine vom Gerät nicht abnehmbare qualifizierte, medizinisch-bakteriologische Tätigkeit.

Der Umgang mit dem Gerät kann nach inzwischen mehr als 1000 störungsfreien Betriebsstunden als sicher und praktikabel bezeichnet werden.

Durch das zusätzliche Angebot eines bidirektionalen Interfaces ist es möglich, die Befunde auf individuell formulierte Formulare drucken zu lassen. Darüber hinaus ist über das bidirektionale Interface auch eine Archivierung und statistische Aufarbeitung der Ergebnisse denkbar.

Neben eher vordergründigen Vorzügen des Gerätes wie zum Beispiel die schnelle Befundausgabe binnen 5 Std. oder die Gelegenheit zur On-Line-Datenübertragung sehen wir als wesentliche Verbesserung für unser Routine-labor die größere Reproduzierbarkeit durch stärkere Standardisierung der Abläufe bei der Empfindlichkeitsprüfung, speziell bei den zahlenmäßig häufigsten Keimen unter räumlich und personell begrenzten Bedingungen. Die vom Hersteller angekündigte Möglichkeit, das Gerät ab Dezember 1984 um ein Programm zur Identifizierung der Enterobacteriaceae, ebenfalls binnen 5 Std., erweitern zu können, wird dem Labor zusätzliche Erleichterung und Beschleunigung dieses Untersuchungsganges bringen.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wäre nicht zustandegekommen ohne die Mitarbeit aller Angehörigen des Bakteriologischen Institutes im Krankenhaus Nordstadt/Hannover.

Schriftum:

1. ALPER, T., STERNE, M.: The measurement of the opacity of bacterial cultures with a photo-electric cell. *J. Hyg. (Lond)* 33, 497 (1933).
2. NORIS, J. R., HEWETT, A. J. W., KINGHAM, W. H., PERRY, P. C. B.: An automatic growth recorder for microbial cultures. In: *Automation, Mechanization and Data Handling in Microbiology*. Eds. Bataille A., Gilbert R. J. Academic Press, New York and London (1970).
3. KAVANAGH, F.: *Analytical Microbiology*. Academic Press, New York and London (1963).
4. MEYNELL, G. C., MEYNELL, E.: *Theory and Practice in Experimental Bacteriology*. Cambridge University Press, Cambridge (1965).
5. COBB, R., CRAWLEY, D. F. C., CROSHAW, B., HALE, L. J., HAELEY, D. R., PAY, F. J., SPICER, A. B., SPOONER, D. F.: The application of some automation and data handling techniques to the evaluation of antimicrobial agents. In: *Automation, Mechanization and Data Handling in Microbiology*. Eds. Bataille A., Gilbert R. J. Academic Press, New York and London (1970).
6. BERGAN, T.: Automatic turbidimetric recorder for microbial cultures. In: *Automation in Microbiology and Immunology*. Eds. Heden C.-G., Illeni T. John Wiley, New York and Cichester (1975).
7. MORELLO, J. A., GRAVES, M. H., BOHNHOFF, M.: Automation im Laboratorium für klinische Mikrobiologie. In: *Das med. Lab.*, 35. Jahrg., 3, 73–83 (1982).
8. ROBRISH, S. A., LEROY, A. F., CHASSY, B. M., WILSON, J. J., KRICHESKY, M. I.: Use of a fiber optic probe for spectral measurements and the continuous recording of growing microbial cultures. *Appl. Microbiol.* 21, 278 (1971).
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards Sub-Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (1979 second edition) Approved Standard ASM-2.
10. DIN-Norm Nr. 58940, 1–6 Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mycobakterien) gegen Chemotherapeutika.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards Vol. 2, Nr. 2 (585 C) March 1983, MS-A2S2 Standard.
12. BOCKHORST, W., SCHIECK, W.: Ablösung des Agar-Diffusionstests für die routinemäßige Sensibilitätsprüfung von Bakterien gegen Antibiotika durch Bestimmung der MHK im Mikrotiter-Verfahren. *Lab.med.* 7, 60–65 (1983).

Anschrift der Verfasser:

Burkhardt Schaper
Krankenhaus Nordstadt
Institut für Hygiene und
Mikrobiologie
3000 Hannover

□