

Die Untersuchung von Blut- und Liquorkulturen mit dem Bactec 660

K. B. Brenner, N. Dickgießer, R. Müller

Institut für Med. Mikrobiologie und Hygiene der Fakultät für Klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg
(Komm. Leiter Prof. Dr. med. N. Dickgießer)

Zusammenfassung:

Das Bactec 660 weist über CO_2 -Messung in Blutkulturen den Stoffwechsel und damit das Wachstum von Mikroorganismen nach. Wir untersuchten mit den Medien NR6A und NR7A die Eigenschaften dieses Systems.

Es zeigte sich, daß 7 (= 0,38%) von 2319 Blutkulturen, die von dem Bactec 660 als steril eingestuft worden waren, Bakterien enthielten, hauptsächlich war es *Staph. aureus*. Die minimale Keimzahl, die von Bactec nach entsprechender Bebrütung erfaßt wird, liegt bei 1–5 Mikroorganismen pro ml. Bei dieser Kontamination lassen sich Enterobacteriaceae in der Regel nach 0,5–1 Tag, grampositive Kokken nach 2 Tagen und Sproßpilze nach 3–4 Tagen nachweisen. Eine Kontamination mit höheren Keimzahlen beschleunigt die Inkubationszeit grampositiver Kokken und von Sproßpilzen um bis zu einem Tag.

Prinzipiell eignet sich das System auch zur Untersuchung von Liquor. Da *Streptococcus pneumoniae*, *Hämophilus influenzae* und *Neisseria meningitidis* darin jedoch schwer oder überhaupt nicht wachsen, muß von seiner Anwendung bei der Liquoruntersuchung – zumindest mit den Medien NR6A und NR7A – abgeraten werden.

Schlüsselwörter:

Blutkultur – Bactec 660 – CO_2 -Bildung von Mikroorganismen

Summary:

The Bactec 660 system analyses growth of microorganisms by measurement of their CO_2 -production. Using the media NR6A and NR7A we examined its properties. The system identified 7 (= 0.38%) out of 2319 blood cultures wrongly as to be sterile; in 4 cases these cultures contained *S. aureus*. The sensitivity of Bactec 660 is very high. An initial colony count of 1–5 microorganisms per ml will be recognised after incubation at 37°C. Enterobacteriaceae will be recognised after 0.5–1 days of incubation, grampositive cocci after 2 days and yeasts after 3–4 days.

Contamination with higher initial colony counts speeds up recognition of grampositive cocci and of yeasts up to one day. Theoretically, Bactec 660 could also be used for examination of cerebrospinal fluid. Nevertheless, this cannot be recommended for media NR6A and NR7A as *H. influenzae*, *N. meningitis* and *Str. pneumoniae* grow very troublesome or don't even grow at all.

Keywords:

Blood cultures – Bactec 660 – CO_2 -production of microorganisms

Einleitung

Nur in einem relativ geringen Prozentsatz von Blutkulturen, die zur mikrobiologischen Untersuchung eingehen, lassen sich Bakterien auch nachweisen. Jede Kultur muß jedoch nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (2) mehrmals mikroskopiert und subkultiviert werden, was einen erheblichen personellen und finanziellen Aufwand darstellt. Es wäre daher wünschenswert, mittels eines einfachen und schnellen Verfahrens sterile Blutkulturen auszusortieren und nur diejenigen weiter zu untersuchen, welche Bakterien enthalten.

Das Bactec 660 (Fa. Becton/Dickinson) scheint diese Möglichkeit zu bieten. Es bestimmt über Infrarotmessung, ob CO_2 , welches durch den Metabolismus von Bakterien entsteht, gebildet wird. In besonders dringenden Fällen

sind auch mehrfache Messungen über das „Manual“-Programm möglich.

Für das mikrobiologische Routinelabor ergibt sich die Vereinfachung daraus, daß Kulturen, in welchen keine CO_2 -Bildung stattfindet, evtl. auch ohne Subkulturen als negativ befundet werden können. Dies stellt eine große Arbeitsvereinfachung dar und spart zudem Nährmedien. Vorbedingung hierfür ist jedoch die Gewißheit, daß dieses Analysensystem keine falsch-positiven Befunde ergibt und auch geringe Keimzahlen erfaßt. Bisher sind nur zwei Publikationen (1, 5) bekannt, die sich mit dem Bactec 660 beschäftigen. Beide Untersucher verglichen Bactec mit konventionellen Systemen und stuften es als ein empfindliches Verfahren ein, welches sich für den Einsatz im Routinelabor eignet. Sie fanden jedoch in Einzelfällen auch falsch negative Resultate. Angaben über die Empfindlichkeit machten sie jedoch ebensowenig,

wie sie durch Subkultivierung oder Mikroskopie der falsch-negativen Bactec-Medien die mit dem Bactec-System nicht erfaßten Bakterien identifizierten.

Zur Zeit befassen sich zahlreiche Institute mit dieser Problematik, wie häufige Nachfragen bei uns zeigen. Es erschien uns daher wünschenswert, folgenden Überlegungen nachzugehen:

1. Wie häufig ergeben sich mit dem Bactec 660 falsch-negative Ergebnisse?
2. Welches ist die minimale Ausgangskeimzahl, die das Bactec 660 noch erfaßt und wie wird die CO₂-Bildung durch verschiedene Keimzahlen beeinflusst?
3. Da wir des öfteren Liquor eingesandt bekommen, der irrtümlich in die Bactec-Medien eingepflegt wurde, gingen wir außerdem der Überlegung nach, ob Bakterien und Pilze aus Liquor ebenfalls mit diesem System, obwohl dies eigentlich nicht dafür konzipiert ist, nachgewiesen werden können.

Material und Methoden

Um die Zuverlässigkeit des Bactec-Systems zu erfassen, wurden 2319 Blutkulturmedien, Bactec NR6A (Tryptic soy broth aerob) und NR7A (Tryptic soy broth anaerob), die auf der Krankenstation mit 4–5 ml Blut beimpft worden und vom Bactec 660 nach 7 Tagen Bebrütung (37°C) als steril eingestuft worden waren, mehrmals auf Schokoladenagar subkultiviert. Als „steril“ wurde eine Kultur bewertet, wenn der täglich gemessene Wachstumswert kleiner als 30 Vol.-% CO₂ und der Differenzwachstumswert, d. h. die Differenz des in Vol.-% gemessenen CO₂-Werts zwischen den einzelnen Meßzeitpunkten ab Bebrütungsbeginn, kleiner als 15 war.

Der Schokoladenagar enthielt 20 g/l Hämoglobin (Oxoid) und 10 ml/l Polyvitex (bio Mérieux), bebrütet wurde die Subkultur aus NR6A in aerober, diejenige aus NR7A in anaerober und aerober Atmosphäre. Wurden Bakterien angezüchtet, differenzierten wir diese mit anerkannten Standardmethoden. Die Empfindlichkeit des Bactec 660 wurde mit jeweils einem Stamm der folgenden Bakterien bzw. Pilze geprüft:

Staph. aureus, *Staph. epidermidis*, *Strep. pneumoniae*, *Strep. faecalis*, *E. coli*, *Klebs. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* und *Torulopsis glabrata*.

Die Mikroorganismen wurden auf Schokoladenagar angezüchtet und in steriler phys. NaCl aufgeschwemmt. Die Konzentration wurde auf McFarland 0.5 eingestellt. Von dieser Suspension wurde eine dekadische Verdünnungsreihe in phys. NaCl angelegt. Deren Keimzahl wurde mittels Subkultur zusätzlich überprüft.

Die Medien NR6A und NR7A, welchen zuvor 4 ml steriles Humanblut zugegeben worden war, wurden mit je 1 ml der einzelnen Verdünnungsstufen beimpft. Pro Keim wurden mindestens 10 aerobe (NR6A) und 10 anaerobe (NR7A) Blutkulturflaschen untersucht. Diese wurden bei 37°C bebrütet. Über 7 Tage wurden täglich die Wachstumswerte gemessen. Bei CO₂-Bildung wurde über Subkultur und anschließender Differenzierung der Keim identifiziert.

Tab. 1: Bakteriologische Überprüfung der vom Bactec 660 nach 7-tägiger Bebrütung als negativ eingestuften NR6A- und NR7A-Medien

Kulturen nach Bactec negativ	Subkulturen steril	Subkulturen unsteril
2319 (= 100%)	2310 (= 99,62%)	9 (= 0,38%)*

* Identifizierung (in Klammern: Zahl der Spezies): *Staph. aureus* (4), *Bacteroides saccharolyticus* (2), *H. influenzae* (1), *Corynebacterium pseudodiphthericum* (1), *Neisseria sp.* (1).

Im letzten Teil der Untersuchung wurde geprüft, ob Bakterien und Pilze in Liquor sich mit den Bactec-Medien NR6A und NR7A nachweisen lassen. Hierfür wurde Liquor sterilfiltriert. Wie auch oben bei der Prüfung von Blutkulturen angegeben, wurden Verdünnungsreihen der einzelnen Bakterien, Pilze und zusätzlich von *Neisseria meningitidis*, hier jedoch in Liquor, hergestellt, deren Keimzahl nach McFarland eingestellt und kulturell bestätigt wurde. Jeweils 1 ml dieser Suspensionen wurde in die Medien NR6A und NR7A, ohne Blutzusatz, geimpft, bei 37°C bebrütet und die Wachstumswerte über 1 Woche täglich bestimmt.

Ergebnisse

Tab. 1 zeigt die Ergebnisse der Sterilitätsprüfung der von Bactec 660 nach 7 Tagen als negativ eingestuften Blutkulturen. Bei 0,38% der Kulturen hatte das System das Wachstum von Bakterien nicht erfaßt, in mehr als der Hälfte der Fälle handelte es sich dabei um *Staph. aureus*.

Abb. 1 und 2 zeigen die Wachstumswerte der geprüften Keime in mit Humanblut versetzten NR6A- und NR7A-Medien über den gesamten Bebrütungszeitraum von 7 Tagen; die Kurven beziehen sich alle auf eine Ausgangskeimzahl von 1–5 KBE/ml. Besonders schnell wachsen die gramnegativen Stäbchenbakterien *E. coli*, *Klebs. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Prot. vulgaris*, *Serr. marcescens* und *Serr. liquefaciens*; hier wäre durch eine Messung nach einem halben Tag das Wachstum oft schon feststellbar gewesen. Langsamer wachsen *Ps. aeruginosa* und – im anaeroben Bereich – *B. thetaiotaomicron*, welche nach 3 bzw. 2 Tagen erfaßt worden wären. Von den grampositiven Kokken wächst *S. aureus* am schnellsten, er wäre jedoch, genau wie die anderen Kokken, erst am 2. Tag in einer Blutkultur nachgewiesen worden. Am langsamsten wachsen die Sproßpilze, die nach 3 bzw. 4 Tagen den Wachstumswert von 30 überschritten haben.

Unterschiede zwischen dem Wachstum in NR6A und NR7A waren nur dann zu verzeichnen, wenn die Erreger nicht in aerober (*Bacteroides thetaiotaomicron*) oder schlecht in anaerober (*Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* und *Torulopsis glabrata*) Atmosphäre wuchsen. In den anderen Fällen stimmten die Ergebnisse mit denjenigen der aeroben Kultur im Medium NR6A überein, weshalb auf eine gesonderte Darstellung verzichtet wird.

Die Abhängigkeit der Nachweisgeschwindigkeit von den Ausgangskeimzahlen (= AKZ) der einzelnen Mikroorganismen wird in den Abb. 3–5 gezeigt, in welchen exemplarisch die Wachstumswerte von *E. coli*, *S. aureus* und *Cand. alb.* demonstriert werden. Es zeigt sich, daß nur in

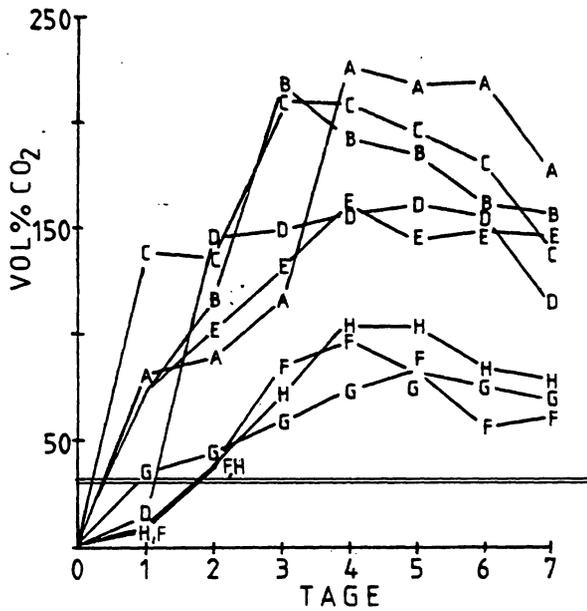


Abb. 1: Wachstumswerte von *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Strep. pneumoniae*, *Strep. faecalis*, *E. coli*, *Klebs. pneumoniae*, *Enterob. cloacae*, *Ps. vulgaris* in NR6A unter aerober Bebrütung [Ausgangskonzentration: 1–5 KBE/ml; ab einem Wachstumswert von 30 (= Doppellinie) wird Wachstum von Mikroorganismen angezeigt.]

A – *Kl. pneumoniae*; B – *E. cloacae*; C – *Ps. vulgaris*; D – *S. aureus*; E – *E. coli*; F – *St. pneumoniae*; G – *St. faecalis*; H – *S. epidermidis*

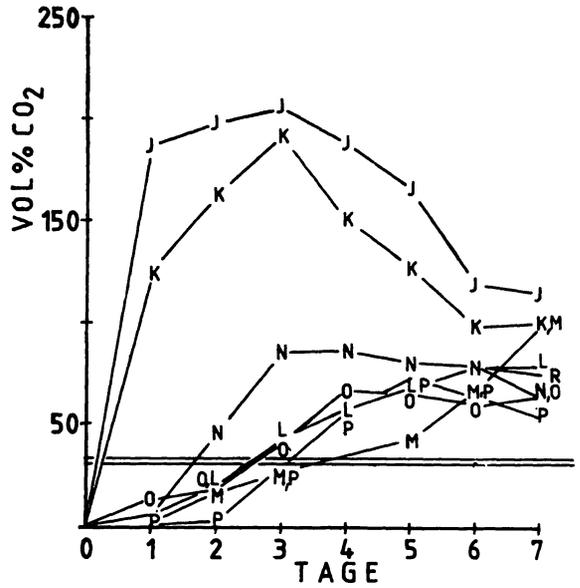


Abb. 2: Wachstumswerte von *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata* in NR6A unter aerober Bebrütung; *Bacteroides thetaiotaomicron* in NR7A unter anaerober Bebrütung [Ausgangskonzentration: 1–5 KBE/ml; ab einem Wachstumswert von 30 (= Doppellinie) wird Wachstum von Mikroorganismen angezeigt.]

J – *Ser. marcescens*; K – *Ser. liquefaciens*; L – *Ps. aeruginosa*; M – *C. albicans*; N – *Bac. thetaiotaomicron* (an.); O – *Haem. influenzae*; P – *Tor. glabrata*; R – *List. monocytogenes*

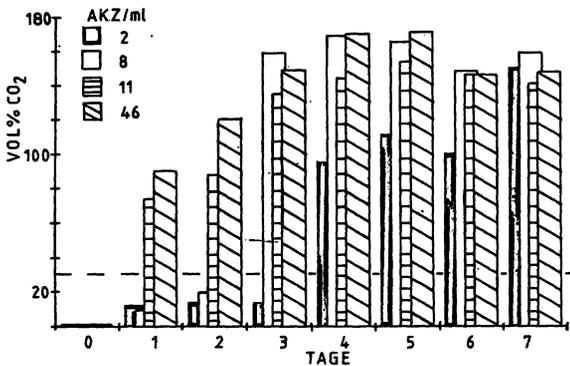


Abb. 3

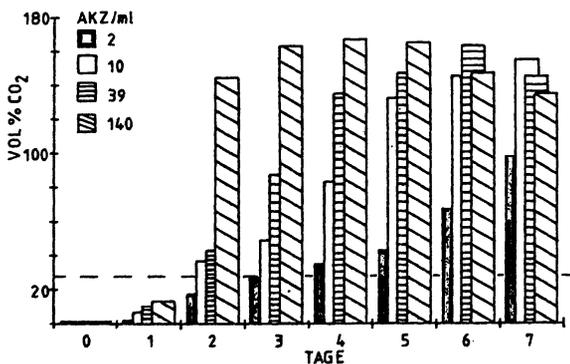


Abb. 4

Abb. 3–5: Wachstumswerte von *E. coli* (= Abb. 3), *Staph. aureus* (= Abb. 4) und *Candida albicans* (= Abb. 5) in NR6A bei unterschiedlichen Ausgangskonzentrationen. Ab einem Wachstumswert von 30 (= gestrichelte Linie) wird Wachstum angezeigt

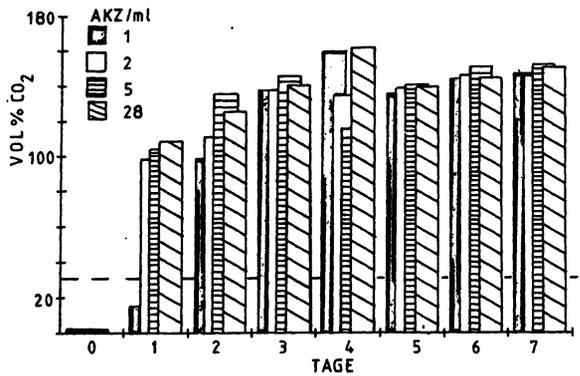


Abb. 5

den unteren Keimzahlbereichen der Wachstumswert stark durch die Ausgangskeimzahl beeinflusst wird. Bei *E. coli* wäre auch bei sehr hoher AKZ die Erfassung durch das Bactec 660, wie auch bei der geringsten Keimzahl, nicht unter einem halben Tag erfolgt. Bei *S. aureus* bewirken sehr hohe Keimzahlen, daß der Erreger bereits nach 1 Tag, bei *C. alb.* nach 2 Tagen nachgewiesen werden kann. Bei den anderen geprüften Keimen ergaben sich keine prinzipiell hiervon abweichenden Verhaltensweisen, vielmehr entsprachen die Wachstumsgeschwindigkeiten den oben angegebenen und wurden durch höhere Keimzahlen um 1–2 Tage beschleunigt. Es wurde daher davon abgesehen, für alle Keime die Ergebnisse gesondert zu demonstrieren.

Die Ergebnisse der Liquoruntersuchungen divergieren nur sehr geringfügig von denjenigen der Blutkulturen. Die Wachstumskurven und -geschwindigkeiten waren vielmehr miteinander identisch, mit folgenden Ausnahmen: *H. influenzae* wuchs ebenso wie *N. meningitis* überhaupt nicht, *Strep. pneumoniae* benötigte 3 Tage, bevor er von Bactec 660 erfaßt wurde, ein zweiter *Strep. pneumoniae* wuchs überhaupt nicht an. Daher kann – unter Berücksichtigung dieser Abweichungen – auf die Wachstumskurven in Abb. 1 und 2 verwiesen werden und eine detaillierte Darstellung unterbleiben.

Diskussion

Mit dem Bactec 660 liegt ein Untersuchungssystem für Blutkulturen vor, welches 0,38% der Kulturen fälschlich als negativ einstuft. Es sollte nicht unerwähnt bleiben, daß wir die 7 bei unseren Untersuchungen nicht erfaßten Keime in einem zweiten Versuch direkt aus den NR6A- und NR7A-Medien, in welchen sie nicht erfaßt worden waren, erneut in NR6A- und NR7A-Medien überimpften, aber auch in diesem zweiten Ansatz die Bakterien nicht mit Bactec 660, trotz guten Wachstums, nachweisen konnten. Vermutlich lag also eine Vorschädigung der Keime vor oder aber sie waren Mutanten, was zur Folge hatte, daß sie geringe Mengen CO₂ bildeten.

Hochempfindlich reagierte das System auf alle von uns geprüften Bakterien und Pilze und hätte sogar bei der geringen Ausgangskeimzahl von 1–5/ml bereits nach

1–3 Tagen die Bakterien und nach 4 Tagen die Pilze erfaßt. Auch *Brucella melitensis* konnten wir damit (hier nicht dargestellt) nachweisen. Wir können die guten Ergebnisse anderer Autoren (1, 5) damit nur bekräftigen.

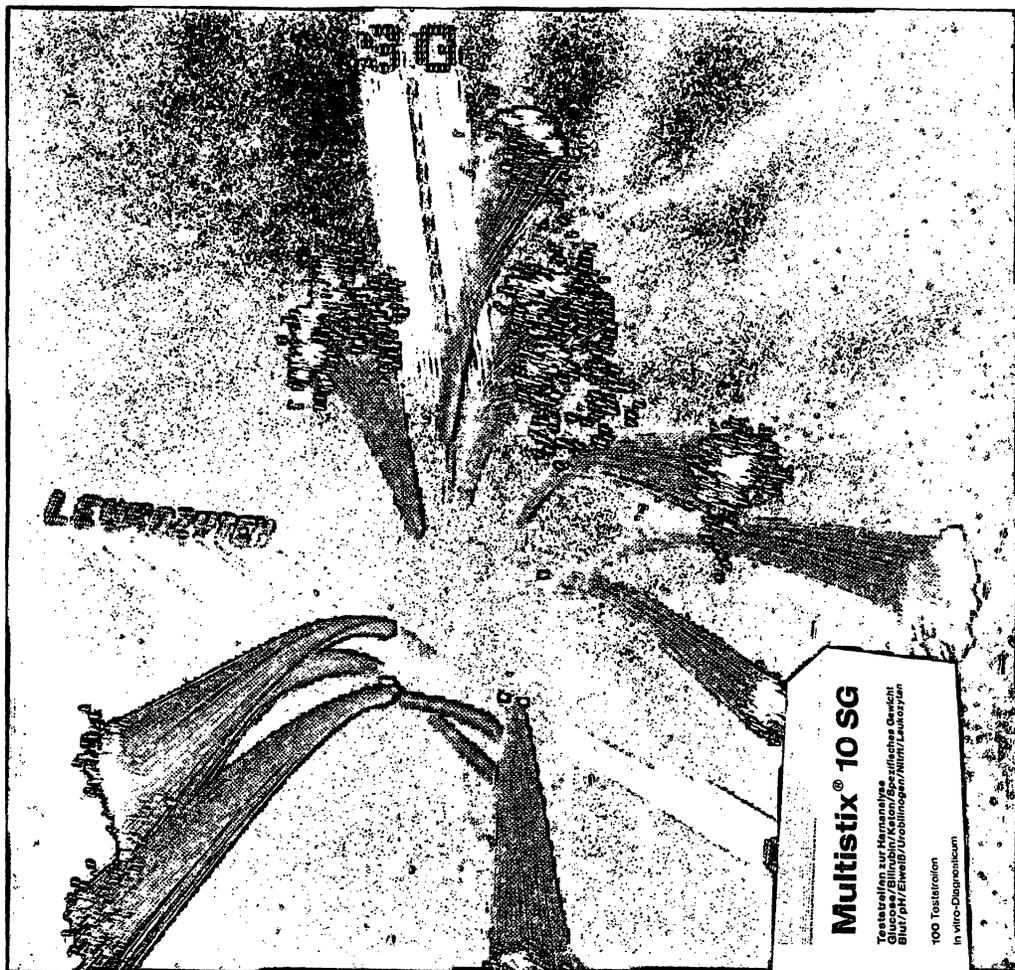
Das System eignet sich auch prinzipiell für die Anzucht von Liquorkulturen. Problematisch ist jedoch, daß gerade *H. influenzae*, *Neisseria meningitidis* und *Strep. pneumoniae*, denen große Bedeutung in der Liquordiagnostik zukommt, nicht bzw. schlecht wachsen. Daher sollten im Routinelabor die Medien NR6A und NR7A für die Liquordiagnostik nicht benutzt werden. In der Zukunft könnten jedoch andere Medien zur Verfügung stehen, welche die erforderlichen Wachstumsfaktoren bereits enthalten; dann böte sich dieses System auch für die Liquordiagnostik an. Für das Routinelabor kann nach diesen Ausführungen für die Blutkulturdiagnostik das Bactec 660 problemlos empfohlen werden. Geht man davon aus, daß alle negativen Blutkulturen nicht mehr entsprechend der DGHM-Richtlinie subkultiviert werden müssen, kommt es zu einer spürbaren Materialkosten- und Arbeitersparnis. Das Bactec 660 ist jedoch sicher nur für Institute von Interesse, die Blutkulturen in größerer Zahl bearbeiten.

Schrifttum:

1. COURCÔL, R. J., FRUCHART, A., ROUSSEL-DELVALLEZ, M., MARTIN, G. R.: Routine evaluation of the nonradiometric Bacter No. 660 system. *J. Clin. Microbiol.* **24**, 26 (1986).
2. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie: Nachweis von Bakterien und Pilzen aus Blutproben. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* **252**, 1 (1982).
3. FINEGOLD, S. M., WHITE, M. L., ZIMENT, I., WINN, W. R.: Rapid diagnosis of bacteremia. *Appl. Microbiol.* **18**, 458 (1969).
4. MANTZ, J. M., FALLER, J. P., LA FAON, A., JUEGER, A., MINCK, R.: Usefulness of microorganism counts in positive haemocultures. *Nouv. Presse Med.* **30**, 2489 (1981).
5. SHAH, P. M., BUCK, U., STILLE, W.: Bactec 660, a new non-isotopic method for blood cultures. In: *Diagnosis of infectious diseases — new aspects*, Simon, C., Wilkinson, P. (eds.), Schattauer Verlag, Stuttgart-New York (1986).

Anschrift des Verfassers:

Dr. K.-P. Brenner
Inst. für Med. Mikrobiologie und Hygiene
Klinikum der Stadt Mannheim
Theodor-Kutzer-Ufer
6800 Mannheim



Labor-Ordnung der Zukunft: Datenmanagement-System für die Harnanalyse.

Entwickelt sich ein medizintechnischer Bereich weiter – ohne Veränderung der angrenzenden Arbeitsfelder – dann ist der Fortschritt nur halb erreicht. Gerade auf das Labor kommen Datenmengen zu, die nach rascher Bearbeitung und präziser Analyse verlangen. Elektronisch genau ermittelte Harnwerte bedingen eben auch eine rechnergestützte Weiterverarbeitung, schlicht ausgedrückt:

Wer A sagt, muß auch B sagen. In der Harnanalyse bieten wir Ihnen das Datenmanagement-System, ein speziell auf das Reflektionsphotometer Clinitek 200 abgestimmtes Hard- und Software-Programm. Dieses System verwaltet die gewonnenen Analysewerte, speichert sie, vergleicht chemische mit mikroskopischen Meßergebnissen, zeigt Veränderungen auf und bietet –

auf Wunsch – die Daten an den zentralen Laborcomputer weiter. Außerdem hält es „Ordnung“. Es trennt die Daten nach Patient, Arzt, Zimmer oder anderen Kriterien. Wir haben ausführliche Informationen für Sie vorbereitet.

Bayer Diagnostic GmbH
Weißenseestraße 101
8000 München 90

Bayer Diagnostic



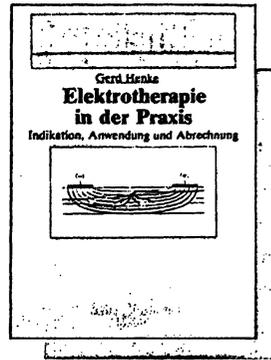
Praxishilfen

Wissen, Tips und Service für den Arzt

Herausgegeben von Frank H. Mader

Das Spektrum der verschiedenen Broschüren umfaßt diagnostische und therapeutische, aber auch abrechnungstechnische und kassenärztliche Themen.

Wissenschaftlichkeit und Praxisbezogenheit helfen dem vielbeschäftigten Arzt, das Wichtigste mit einem Blick zu erfassen, ohne in dicken Lehrbüchern nachschlagen zu müssen.



Indikation, Anwendung und Abrechnung, 15 Tabellen und 37 Abbildungen, 80 Seiten, 3. Auflage, 24,80 DM.



Katalog und Kommentar für die Allgemeinmedizin, gültig für BMA '87 und E-GO, 4. Auflage, 43,80 DM.



Leitfaden für Ärzte im Umgang mit Versicherern und Versicherungen. 24 Tabellen mit 12 ausklappbaren Seiten, 4 Abb., 52 Seiten, 2. Auflage, 17,80 DM.



Indikationen, Kontraindikationen, Kosten und Richtlinien für Kassenärzte, 64 Seiten, 2. Auflage, 22,80 DM.



Durchführungen – Auswertung – Abrechnung, 17 Abbildungen, 56 Seiten, 2. Auflage, 22,80 DM.



Ein Leitfaden für Verordnung, Materialien und Kosten, 44 Seiten, 2. Auflage, 24,80 DM.

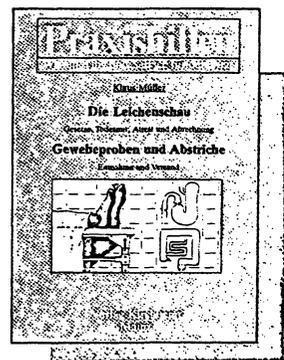
Beispiellos plakativ, didaktisch relevant und praxisbezogen!



Wertermittlung und Steuerrecht bei Kauf und Verkauf von Arztpraxen, 50 Seiten, 25,80 DM.



Vordruckmuster, Richtlinien und Hilfen, 102 Seiten, 49,80 DM.



Gesetze, Todeszeit, Attest und Abrechnung, Gewebeprobe und Abstriche, Entnahme und Versand, 52 Seiten, 25,80 DM.