

# Über den Nachweis der Oxacillin-Resistenz von *Staphylococcus aureus*

## Detection of Oxacillin Resistance of *Staphylococcus aureus*

W. Mühlenberg  
Staatliches Medizinaluntersuchungsamt Hannover (Leiter: Prof. Dr. J. Sänder)

### Zusammenfassung:

35 von 47 Gentamicin- und Tetracyclin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen erwiesen sich bei der Untersuchung mit zwei in den USA üblichen Standardverfahren – Bouillon-Verdünnungsmethode in Mueller-Hinton-Bouillon mit Zusatz von 20 g/l Natriumchlorid, 50 mg/l Kalzium und 25 mg/l Magnesium (MHBS) sowie Beimpfung von Mueller-Hinton-Agar mit Zusatz von 6 mg/l Oxacillin und 40 g/l Natriumchlorid – übereinstimmend als Oxacillin-resistent. Dieselben Stämme zeigten bei der Testung in MHBS auch eine Cefazolin-Resistenz.

Von den in Deutschland üblichen Verfahren konnte die Bouillon-Verdünnungsmethode in einfacher, nicht supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon (MHB) nur bei 20 der 35 Stämme mit intrinsischer Resistenz (57,1 %) die Oxacillin-Resistenz und nur bei 16 Stämmen (45,7 %) die Cefazolin-Resistenz anzeigen. Beim Agar-Diffusionstest lag die Aufdeckungsquote bei Verwendung von DST-Agar bei nur 65,7 % für die Oxacillin-Resistenz und bei nur 42,9 % für die Cefazolin-Resistenz, während sie bei Verwendung von Mueller-Hinton-Agar 97,1 % bzw. 88,6 % erreichte. Die schlechten Ergebnisse mit dem DST-Agar sind möglicherweise durch den Mangel dieses Nährbodens an Erdalkalitionen (Kalzium und Magnesium) bedingt.

Alle 35 Oxacillin-, Gentamicin- und Tetracyclin-resistenten Stämme waren gleichzeitig gegen Erythromycin und Co-Trimoxazol resistent, 32 zusätzlich gegen Ciprofloxacin, davon 5 auch gegen Clindamycin und einer gegen Chloramphenicol.

### Schlüsselwörter:

*Staphylococcus aureus* – Nachweis der Oxacillin-Resistenz – Mangelhafte Nachweisempfindlichkeit von Routinemethoden

### Summary:

35 out of 47 gentamicin- and tetracycline-resistant strains of *Staphylococcus aureus* showed to be oxacillin-resistant, when tested by two standard procedures commonly applied in USA, and that by the broth dilution method with Mueller-Hinton-Broth supplemented with 20 g/l sodium chloride, 50 mg/l calcium and 25 mg/l magnesium (MHBS) as well as by inoculating Mueller-Hinton-Agar containing 6 mg/l Oxacillin and 40 g/l sodium chloride. The same strains turned out to be cefazolin-resistant, when tested in MHBS.

Broth dilution method with unsupplemented Mueller-Hinton-Broth (MHB) commonly applied in Germany was able to detect oxacillin-resistance only in 20 (57.1 %) and cefazolin-resistance only in 16 (45.7 %) of the 35 strains with intrinsic resistance. As to agar diffusion test the detection quota for oxacillin-resistance was only 65.7 % and for cefazolin-resistance only 42.9 % when using DST-Agar, but 97.1 % and 88.6 % respectively when using Mueller-Hinton-Agar. Possibly the poor results with DST-Agar are caused by lack of divalent cations (calcium and magnesium).

All the 35 oxacillin-, gentamicin- and tetracycline-resistant strains were resistant to erythromycin and co-trimoxazol too, 32 also to ciprofloxacin, 5 of them also to clindamycin and one to chloramphenicol.

### Keywords:

*Staphylococcus aureus* – detection of oxacillin-resistance – poor sensitivity of routine methods

## Einleitung

Die weltweit zu beobachtende zunehmende Resistenz von *Staphylococcus aureus* gegen die sogenannten Penicillinase-stabilen Penicilline wie Oxacillin und Methicillin stellt ein ernstes Problem der Krankenhaushygiene dar (11, 21, 27, 29, 36, 48), zumal sie immer mit einer gleichzeitigen Resistenz gegen Cephalosporine und sehr häufig auch gegen eine Reihe weiterer Antibiotika wie Gentamicin, Tetracyclin, Erythromycin und Co-Trimoxazol einhergeht (1, 10, 11, 20, 22, 23, 57). Sie beruht auf der Expression einer zusätzlichen, chromosomal kodierten Trans-

peptidase, des Penicillin-Bindeproteins 2a, das eine wesentlich geringere Bindungsaffinität für Beta-Lactam-Antibiotika hat (15, 21, 30, 45, 54).

Die üblichen Testsysteme versagen häufig bei der Aufdeckung dieser sogenannten intrinsischen Resistenz (11, 21, 23, 46, 47, 49, 50). Das ist auf die Heterogenität der meisten Oxacillin-resistenten Wildstämme zurückzuführen (11, 21). Bei derartigen Stämmen überlebt unter den üblichen Testbedingungen nur ein sehr kleiner Anteil der Gesamtpopulation der Zellen die Oxacillin-Exposition (10, 16, 19, 21). Durch osmotische Stabilisierung dieser heteroresistenten Staphylokokken wie z. B. durch Zusatz von

Natriumchlorid zum Testmedium, ferner durch Supplementierung mit Erdalkalitionen und durch Senkung der Bebrütungstemperatur unter 37°C kann die Überlebensquote der Keime und somit der Aussagewert der Resistenzprüfung entscheidend verbessert werden (1, 2, 9, 21, 41, 43, 47, 50). Dementsprechend wurden in den USA zwei Standardverfahren zur Aufdeckung der intrinsischen Resistenz entwickelt, die sowohl für *Staphylococcus aureus* als auch für koagulasenegative Staphylokokken gelten, und zwar die Bouillon-Verdünnungsmethode mit Natriumchlorid- und Erdkali-supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon sowie die Beimpfung von oxacillinhaltigem Mueller-Hinton-Agar mit erhöhtem Natriumchloridgehalt bei einer Bebrütungstemperatur von 35°C für beide Verfahren (32, 50, 51, 52).

Ein Ziel der eigenen Untersuchungen war, den Anteil Oxacillin-resistenter Stämme unter *Staphylococcus aureus*-Isolaten mit gleichzeitiger Gentamicin- und Tetracyclin-Resistenz mit Hilfe der beiden Standardmethoden aus den USA zu bestimmen. Dabei sollte auch der Aussagewert der noch weithin in Deutschland verwendeten Routineteste – Bouillon-Verdünnungsmethode mit einfacher, nicht supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon und Agar-Diffusionstest mit DST-Agar bzw. Mueller-Hinton-Agar – geprüft werden. Schließlich interessierte auch das Resistenzverhalten der Oxacillin-resistenten Stämme gegen andere Antibiotika.

## Material und Methoden

### Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK)

Die MHK wurde mit der Bouillon-Verdünnungsmethode im standardisierten Mikroverfahren (53) mit je 100 µl Antibiotikaverdünnung in den Kammern von Mikrotiterplatten mit U-förmigen Böden bestimmt. Diese Platten werden den niedersächsischen Medizinaluntersuchungsämtern seit 1982 von einem anderen Institut gebrauchsfertig geliefert (5, 33, 34). Die Beimpfung erfolgte mit einem MIC-2000-Inokulator (Dynatech). Bebrütungsdauer und -temperatur betragen entsprechend DIN 58940, Teil 5, 20 Stunden und 36 ± 1°C für die Routinemethode sowie 24 Stunden und 35°C für das Standardverfahren (50, 51).

Die Grenzwerte betragen für die Bewertungsstufen

	sensibel (bis µg/ml)	mäßig sensibel (von bis µg/ml)	resistent (über µg/ml)
bei Oxacillin	1		1
Cefazolin	4	8 – 16	16
Gentamicin	1	2 – 4	4
Tetracyclin	1	2 – 4	4
Erythromycin	1	2 – 4	4
Clindamycin	1	2 – 4	4
Co-Trimoxazol	4	8 – 16	16
Ciprofloxacin	0,25	0,5 – 1	1
Chloramphenicol	8		8

### Agar-Screen-Test nach Thornsberry und Jorgensen

Für den Agar-Screen-Test wurde das Inokulum auf eine Dichte von 0,5 McFarland-Einheiten eingestellt und mit einem Tupfer durch leichtes Berühren auf die oxacillinhaltigen, mit Natriumchlorid supplementierten Agarplatten gebracht. Die Bebrütungsdauer betrug 24 Stunden, die Bebrütungstemperatur 35°C entsprechend der Vorschrift des Standardverfahrens – in Parallelansätzen auch 30°C und 37°C.

### Agar-Diffusionstest

Der Agar-Diffusionstest wurde als Blättchentest nach DIN 58940, Teil 3, durchgeführt.

### Testmedien und Supplemente

Als Nährlösung für die MHK-Bestimmung wurde Mueller-Hinton-Bouillon (MHB, Difco) verwendet. Bei einem Teil der Platten wurden die Kammern der Oxacillin- und Cefazolin-Verdünnungsreihen mit je 10 µl einer 11fach konzentrierten Lösung von Natriumchlorid, Kalziumchlorid und Magnesiumchlorid supplementiert (MHBS), so daß ein Gehalt von 20g/l Natriumchlorid, 50 mg/l Kalzium und 25 mg/l Magnesium resultierte, wie er in den USA für das Standardverfahren zum Nachweis der Oxacillin-Resistenz von Staphylokokken vorgeschrieben ist (50, 51, 52). Die MHK-Werte wurden für Oxacillin und Cefazolin gleichzeitig in MHB und MHBS bestimmt, für Gentamicin, Tetracyclin, Erythromycin, Clindamycin, Co-Trimoxazol, Ciprofloxacin und Chloramphenicol nur in MHB.

Als Testmedium für den Agar-Screen-Test diente der Mueller-Hinton-Agar der Fa Difco (Contr. 737542) mit einem Zusatz von 40g/l Natriumchlorid und 6 mg/l Oxacillin (Bayer, Pt 53273) entsprechend der Vorschrift des Standardverfahrens (51, 52) sowie für einen Parallelansatz auch mit einem Zusatz von nur 2 mg/l Oxacillin. Für einige Stämme wurde auch der Mueller-Hinton-Agar der Fa Oxoid (Lot No. 20141091) und der Fa Merck (Ch.-B./Lot 76083759) sowie der Iso-Sensitest-Agar (Lot No. 26641565) und der DST-Agar (Lot No. 10240491) der Fa Oxoid verwendet.

Für den Agar-Diffusionstest wurden der Mueller-Hinton-Agar der Fa Difco (Contr. 737542) und der DST-Agar der Fa Oxoid (Lot No. 10240491) benutzt und Antibiotika-Testblättchen, die mit 5 µg Oxacillin (Becton u. Dickinson, Ch.B. 803555) bzw. 30 µg Cefazolin (bioMerieux, Lot 01806) beschickt waren.

### Bakterienstämme

Die Untersuchungen wurden durchgeführt mit 47 Gentamicin- und Tetracyclin-resistenten, aus klinischem Material isolierten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (34 aus Urin, 11 aus Wundabstrichen und je einer aus Trachealsekret bzw. aus einem Cava-Katheter) aus neun Krankenhäusern des Großraums Hannover. Sie waren in einem Zeitraum von vier Monaten – von August bis November 1988 – gesammelt worden. Die 47 Isolate stammten von verschiedenen Patienten. Als *Staphylococcus aureus* wurden grampositive Kokken klassifiziert, die Kaninchenplasma (BAG) im Röhrchentest koagulierten, Mannit, Trehalose und Saccharose spalteten und DNase bildeten.

Zur Kontrolle dienten *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 und *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

## Ergebnisse

### Testung der Oxacillin- und Cefazolin-Resistenz mit der Bouillon-Verdünnungsmethode in einfacher und in supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon (MHB bzw. MHBS)

47 Gentamicin- und Tetracyclin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme wurden mit der Bouillon-Verdünnungsmethode in einfacher und in supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon (MHB bzw. MHBS) auf ihre Oxacillin- und Cefazolin-Resistenz untersucht. Während mit der einfachen Mueller-Hinton-Bouillon nur 20 der 47

Stämme als Oxacillin-resistent (MHK  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ ) klassifiziert wurden, waren es mit der supplementierten 35. 12 Stämme wurden mit beiden Bouillons übereinstimmend als Oxacillin-sensibel eingestuft (Tab. 1). Nur 4 Stämme erwiesen sich in MHB als Cefazolin-resistent (MHK  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ ) und 12 als mäßig sensibel (MHK =  $8-16 \mu\text{g/ml}$ ). Mit MHBS wurden 35 Stämme als Cefazolin-resistent klassifiziert, und zwar dieselben, die in MHBS auch eine Oxacillin-Resistenz aufgewiesen hatten.

Unter Verwendung der mit MHBS erzielten Ergebnisse als Bezugssystem – d. h. unter der Voraussetzung, daß dem Standardverfahren mit MHBS eine große Zuverlässigkeit zukommt (32) – errechnet sich für unsere Routine-methode mit einfacher Mueller-Hinton-Bouillon eine Nachweis-Empfindlichkeit von nur 57,1% für die Oxacillin-Resistenz (Abb. 1) und – unter Einbeziehung der mäßig sensiblen Ergebnisse – von nur 45,7% für die Cefazolin-Resistenz (Abb. 2). Diese Unterschiede zum Standardverfahren sind nach dem Chi-Quadrat-Test signifikant ( $P < 0,01$ ) bzw. hochsignifikant ( $P < 0,001$ ).

Die Oxacillin-MHK-Werte lagen bei Verwendung von MHBS für alle resistenten Stämme über 4, die Cefazolin-MHK-Werte 27mal über 32 und 8mal bei  $32 \mu\text{g/ml}$ .

#### Agar-Screen-Test

Bei der Testung der 47 Stämme in Agar-Screen-Test mit oxacillinhaltigem, mit Natriumchlorid supplementierten Mueller-Hinton-Agar der Fa Difco zeigten alle 35 Stämme, die mit der Bouillon-Verdünnungsmethode mit MHBS als Oxacillin-resistent eingestuft worden waren, bei allen drei Bebrütungstemperaturen – d. h. bei  $30^\circ\text{C}$ ,  $35^\circ\text{C}$  und  $37^\circ\text{C}$  – ein deutliches Wachstum, das bei  $30^\circ\text{C}$  in der Regel etwas schwächer war als bei den beiden höheren Temperaturen. Auch in diesem Test erwiesen sich die restlichen 12 Stämme als Oxacillin-sensibel.

Der parallel durchgeführte Agar-Screen-Test mit geringerem Oxacillingehalt der Platten –  $2 \text{ mg/l}$  statt  $6 \text{ mg/l}$  – brachte übereinstimmende Ergebnisse.

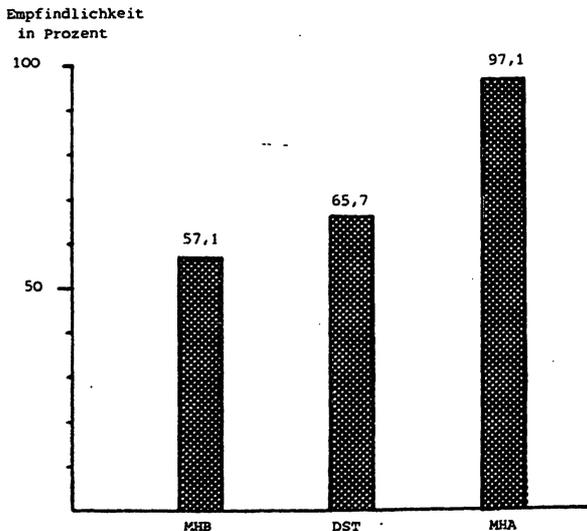


Abb. 1: Nachweis-Empfindlichkeit von Routinemethoden für die Oxacillin-Resistenz, und zwar der Bouillon-Verdünnungsmethode mit einfacher Mueller-Hinton-Bouillon (MHB), des Diffusionstestes mit DST-Agar und des Diffusionstestes mit Mueller-Hinton-Agar (MHA) ( $n = 35$  Oxacillin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme)

Tab. 1: Vergleich des Resistenzverhaltens von 47 Gentamicin- und Tetracyclin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen gegen Oxacillin und Cefazolin nach MHK-Bestimmung in einfacher Mueller-Hinton-Bouillon (MHB) sowie in supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon (MHBS)

Antibiotikum	Anzahl der Stämme mit gleichen Testergebnissen (MHB = MHBS)			Anzahl der Stämme mit Änderung der Testergebnisse (MHB $\rightarrow$ MHBS)	
	s=s	ms=ms	r=r	s $\rightarrow$ ms	s $\rightarrow$ r
Oxacillin	12		20	15	
Cefazolin	12		4	19	12

s = sensibel      ms = mäßig sensibel      r = resistent

Tab. 2: Wachstum von drei Oxacillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen auf fünf mit Natriumchlorid ( $40 \text{ g/l}$ ) und Oxacillin ( $6 \text{ mg/l}$ ) supplementierten Testmedien

Testmedium	Wachstum von Stamm		
	A	B	C
Mueller-Hinton-Agar (Difco)	+	+	+
Mueller-Hinton-Agar (Oxoid)	+	+	+
Mueller-Hinton-Agar (Merck)	+	+	+
Iso-Sensitest-Agar (Oxoid)	+	+	$\pm$
DST-Agar (Oxoid)	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$

+ = gutes Wachstum,       $\pm$  = mäßiges Wachstum,       $\emptyset$  = kein Wachstum

Bei der Prüfung weiterer Testmedien auf ihre Brauchbarkeit für den Agar-Screen-Test mit drei Oxacillin-resistenten Stämmen versagte der DST-Agar. Trotz Supplementierung mit Natriumchlorid war auf diesem Nährboden keinerlei Wachstum zu beobachten (Tab. 2).

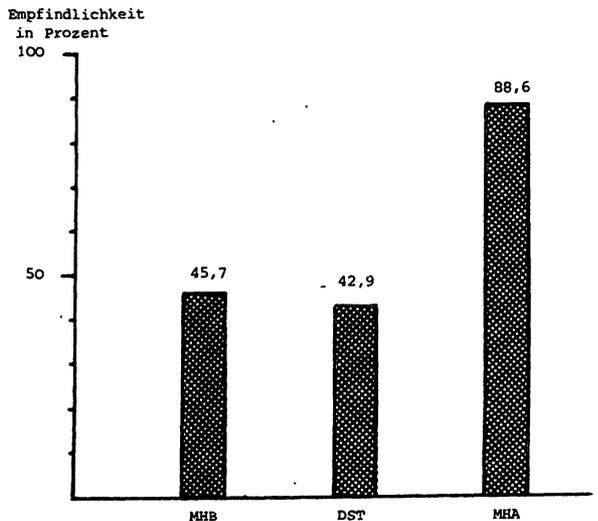


Abb. 2: Nachweis-Empfindlichkeit von Routinemethoden für die Cefazolin-Resistenz, und zwar der Bouillon-Verdünnungsmethode mit einfacher Mueller-Hinton-Bouillon (MHB), des Diffusionstestes mit DST-Agar und des Diffusionstestes mit Mueller-Hinton-Agar (MHA) ( $n = 35$  Cefazolin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme)

**Agar-Diffusionstest**

Der Agar-Diffusionstest wurde bei den 47 Stämmen gleichzeitig mit dem DST-Agar und mit dem Mueller-Hinton-Agar durchgeführt. Mit dem DST-Agar waren nur 23 der 35 Oxacillin-resistenten Stämme aufgrund eines Hemmhofdurchmessers von weniger als 16 mm als Oxacillin-resistent einzustufen, woraus sich eine Nachweisempfindlichkeit von nur 65,7 % ergibt – ein signifikanter Unterschied ( $P < 0,02$ ) zu den Standardverfahren. Bei Verwendung des Mueller-Hinton-Agars gelang die Aufdeckung der Oxacillin-Resistenz hingegen bei 34 Stämmen, was einer Nachweis-Empfindlichkeit von 97,1 % entspricht (Abb. 1). Abb. 3 zeigt die beträchtlichen Unterschiede der Hemmhofdurchmesser von DST-Agar und Mueller-Hinton-Agar.

Beim Cefazolin waren auf dem DST-Agar nur 7 der 35 Cefazolin-resistenten Stämme als resistent zu klassifizieren (Hemmhofdurchmesser  $< 19$  mm) und 8 als mäßig sensibel (Hemmhofdurchmesser = 19–23 mm), woraus sich – unter Einbeziehung der mäßig sensiblen Ergebnisse – eine Nachweis-Empfindlichkeit von nur 42,9 % errechnet (Abb. 2) – ein hoch signifikanter Unterschied ( $P < 0,001$ ) zu dem Ergebnis mit supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon. Auf dem Mueller-Hinton-Agar waren 22 Stämme als resistent und 9 als mäßig sensibel einzustufen, d. h. die Nachweis-Empfindlichkeit betrug 88,6 % (Abb. 2). Die unterschiedliche Verteilung der Hemmhofdurchmesser auf den beiden Testmedien mit der deutlichen „Rechtsverschiebung“ beim DST-Agar geht aus Abb. 4 hervor. Der Medianwert für den Mueller-Hinton-Agar lag bei 14 mm, für den DST-Agar bei 25 mm.

Alle 12 in den beiden Standardverfahren als Oxacillin-sensibel klassifizierten Stämme wurden auch im Agar-Diffusionstest als Oxacillin- bzw. Cefazolin-empfindlich eingestuft.

**Resistenzmuster**

Alle 35 Oxacillin-, Gentamicin- und Tetracyclin-resistenten Stämme waren auch noch gegen Erythromycin und Co-Trimoxazol resistent, 32 zusätzlich gegen Ciprofloxacin, 5 davon auch noch gegen Clindamycin und einer gegen Chloramphenicol (Tab. 3). Oxacillin-resistente Stämme des mit 27 Isolaten am häufigsten vertretenen Resistenzmuster-Typs III kamen in neun Krankenhäusern des Großraums Hannover vor.

**Diskussion**

Die sogenannte intrinsische Resistenz von *Staphylococcus aureus* gegen die Penicillinase-stabilen Penicilline ist durch ein spezielles Penicillin-Bindeprotein (PBP 2 a) bedingt – wahrscheinlich eine Murein-Transpeptidase, die eine 100- bis 1000fach geringere Bindungsaffinität für Beta-Lactam-Antibiotika hat als die anderen Transpeptidasen (16, 21, 30, 54). Das PBP 2 a wird wahrscheinlich durch ein nur in Staphylokokken mit intrinsischer Resistenz vorkommendes Gen in einer transposonartigen Sequenz des Chromosoms kodiert (3, 21, 24, 39). Seine Expression wird möglicherweise durch Gene kontrolliert, welche entweder seine Bildung limitieren oder es erst zum funktionsfähigen Enzym modifizieren, evtl. auch noch durch Gene, welche das autolytische System der Zellwand regulieren (4, 6, 16, 37, 38).

Die meisten Wildstämme weisen eine sogenannte Heteroresistenz auf, d. h., die einzelnen Vertreter einer Zellpopulation exprimieren funktionsfähiges PBP 2 a in unterschiedlichem Maße. So wird diese lebenswichtige Transpeptidase unter den üblichen Testbedingungen nur von einer von  $10^4$  bis  $10^7$  Tochterzellen eines heteroresistenten Keimes schnell genug gebildet, um im Wettlauf mit der Wirkung der Beta-Lactam-Antibiotika und mit dem

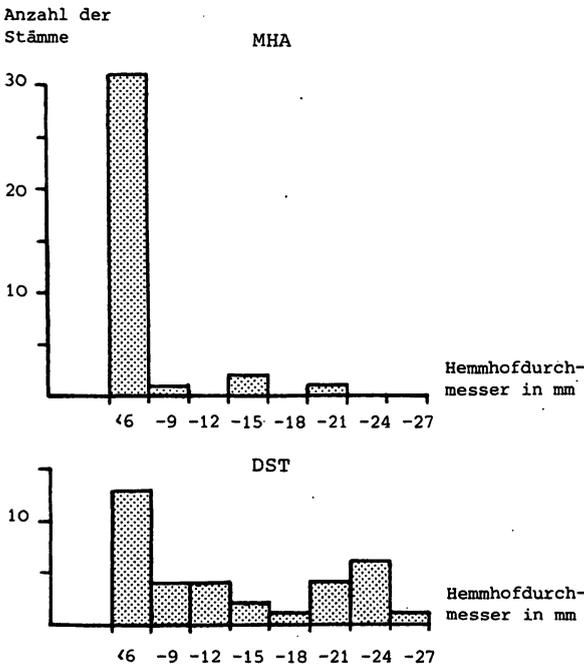


Abb. 3: Hemmhofdurchmesser des Agar-Diffusionstestes mit Oxacillin-Testblättchen bei 35 Oxacillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen auf Mueller-Hinton-Agar (MHA) und auf DST-Agar

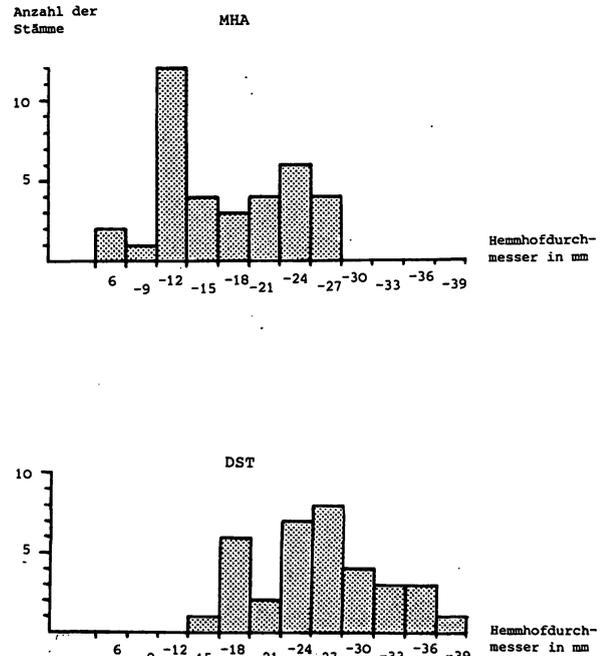
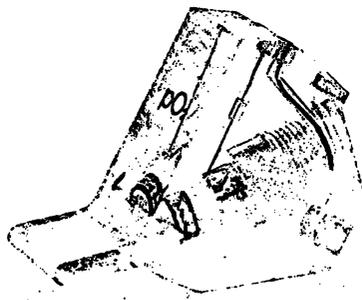


Abb. 4: Hemmhofdurchmesser des Agar-Diffusionstestes mit Cefazolin-Testblättchen bei 35 Cefazolin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen auf Mueller-Hinton-Agar (MHA) und auf DST-Agar

# Jetzt im Labor: Management by Sensor.

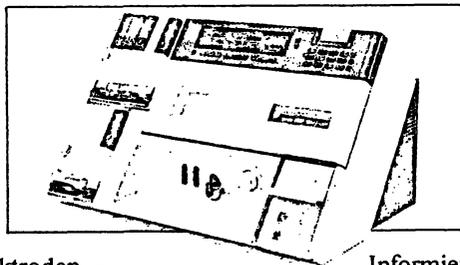


## Die neue Zuverlässigkeit.

Präzise, schnelle Resultate in der Blutgas-Analytik basieren gleichermaßen auf zuverlässigen Analysen-Systemen wie auf Zubehör und Reagenzien.

Die pH/Blutgas-Systeme 278, 280 und 288 mit ihren unterschiedlichen Parameter-Möglichkeiten sind auf Zuverlässigkeit programmiert.

Ausgestattet mit der neuartigen Sensor-Technologie verzichten sie auf die bisher üblichen Elektroden - der damit verbundene Membranwechsel entfällt.



Die bekannten Qualitätsvorteile der Ciba-Corning pH/Blutgas-Systeme werden nun durch

wesentliche Aspekte ergänzt:

- Individuelle Parameterwahl
- Kein Elektroden Membranwechsel
- Einfachste Bedienung
- Reduzierter Wartungsaufwand
- Mikro-Probenvolumen
- Transparente Meßkammer
- Volle Automation

Informieren Sie sich über die neuen pH/Blutgas-Systeme mit der modernen Sensor-Technologie.

Deutschland

Ciba Corning Diagnostics GmbH  
Industriestraße 11 · D-6301 Fernwald 2  
Tel. (06 41) 40 03-0 · Telex 482 971

## CIBA·CORNING

Schweiz

Ciba Corning Diagnostics AG  
Neue Winterthurerstrasse 15 · CH-8305 Dietlikon  
Tel. (00 41) 18 33 27 27 · Telex 045 827 307

# Der Vorsprung in Aktion: IM

B-HCG

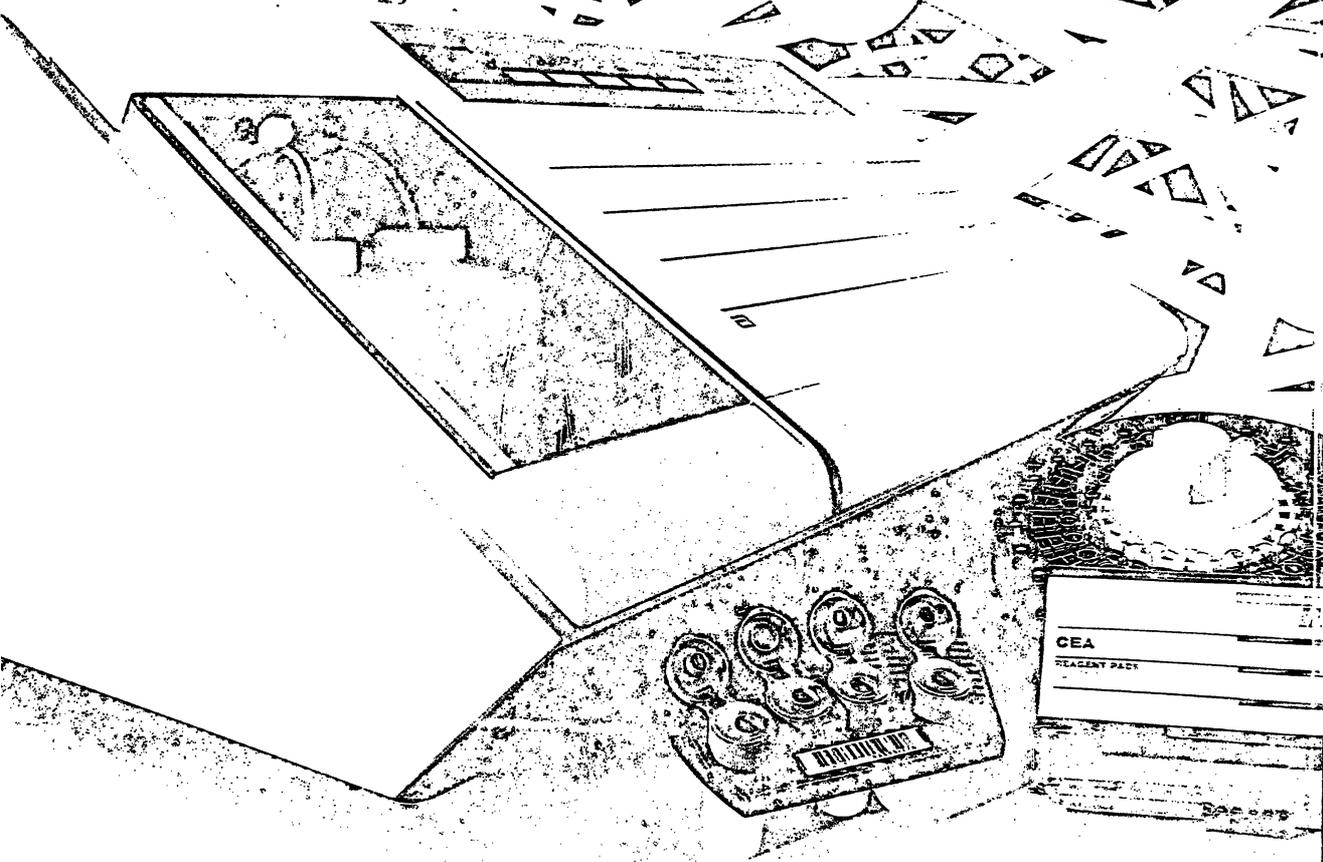
TOXO-  
TOXO-

SCC

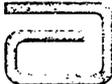
IRUBA G

CEA

IGE



## Überzeugend!

 ABBOTT

IMMER WENN ES SCHNELL  
GEHEN MUSS  
PRÄZISE, AUTOMATISCH, WIRTSCHAFTLICH

Neben o. g. Tests sind bereits folgende  
Parameter verfügbar:  
T3 T-Uptake AFP FERRITIN  
T4 hTSH HCG

Tab. 3: Resistenzmuster von 35 Oxacillin-resistenten sowie 12 Oxacillin-empfindlichen Stämmen von *Staphylococcus aureus* (G = Gentamicin, T = Tetracyclin, E = Erythromycin, Co = Co-Trimoxazol, Ci = Ciprofloxacin, Cl = Clindamycin, Ch = Chloramphenicol)

Oxacillin-Resistenz	Resistenzmuster																																													
	I							II					III			IV		V			VI																									
	G	T	E	Co	Ci	Cl	Ch	G	T	E	Co	Ci	Cl	G	T	E	Co	Ci	G	T	E	Co	G	T	E	-	Ci	G	T	E																
vorhanden				1							4								27							3									0											0
nicht vorhanden				0							0								5							1									4											2
Gesamtzahl der Stämme				1							4								32							4									4											2

autolytischen System ein Überleben zu gewährleisten (6, 16). Bei Bebrütungstemperaturen von unter 37°C wird die Expression der intrinsischen Resistenz bei vielen heteroresistenten Stämmen begünstigt, so daß die Überlebensquote der Zellen trotz hoher Oxacillin-Konzentration stark gesteigert werden kann – bei 30°C bis auf fast 100% (1, 9, 16, 21, 41, 43, 49, 56). Einen gleichen Effekt hat der Zusatz von Natriumchlorid – vor allem wohl durch osmotische Stabilisierung der Keime, die durch die Penicillinase-festen Beta-Lactame bis zum Einsetzen der PBP 2 a-Produktion in ihrer Zellwandsynthese sehr behindert werden (8, 28, 41, 44). Die Schutzwirkung der osmotischen Stabilisierung scheint sogar effektiver zu sein als die der Temperatursenkung; denn von ihr haben offenbar mehr heteroresistente Stämme einen Vorteil (31).

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse wurden in den USA die beiden oben beschriebenen Standardverfahren zur Aufdeckung der intrinsischen Resistenz von Staphylokokken entwickelt. Beide Methoden zeigten nach eigenen Untersuchungen und entsprechend den Beobachtungen amerikanischer Autoren (32) eine 100%ige Übereinstimmung und ermöglichten eine klare Trennung zwischen Oxacillin-resistenten und -empfindlichen Stämmen. Eine Senkung des Oxacillingehaltes des Mueller-Hinton-Agars beim Agar-Screen-Test von 6 mg/l auf 2 mg/l – entsprechend dem niedrigeren Breakpoint der DIN 58940, Teil 4 – brachte keine Änderung der Resistenzquote. Voraussetzung für die Zuverlässigkeit beider Standardverfahren ist allerdings, daß die Bebrütungs-dauer auf 24 Stunden beschränkt wird. Andernfalls können Staphylokokken-Stämme mit starker Beta-Lactamase-Bildung durch allmähliche Inaktivierung des Oxacillins eine intrinsische Resistenz vortäuschen (26, 32, 35, 52, 58). Alle 35 in den beiden Standardverfahren als Oxacillin-resistent klassifizierten Stämme erwiesen sich im Bouillon-Verdünnungstest mit supplementierter Mueller-Hinton-Bouillon auch als Cefazolin-resistent. Diese gleichzeitige Resistenz von Oxacillin-resistenten Stämmen gegen Cephalosporine wurde bereits mehrfach beschrieben (20, 21, 42, 57). Sie beruht auf der geringen Bindungsaffinität des PBP 2 a für alle Beta-Lactame.

Die Nachweis-Empfindlichkeit unserer Routinemethode – d. h. des Bouillon-Verdünnungstestes mit einfacher Mueller-Hinton-Bouillon – betrug für die Oxacillin-Resistenz nur 57,1% und für die Cefazolin-Resistenz nur 45,7% (Abb. 1 und 2, Tab. 1). Hier wurde die in den USA schon seit langem bekannte Unzuverlässigkeit von Resistenzbestimmungen mit nicht supplementierten Testmedien (50) offenbar. Die alleinige Senkung der Bebrütungstemperatur auf 35°C reicht nicht aus, wie ein Parallelansatz mit fünf unserer Oxacillin-resistenten Stämme in einfacher MHB gezeigt hat: Sie führte nur dreimal zu einer geringfügigen Erhöhung der MHK um eine Stufe.

Auch der Diffusionstest mit DST-Agar brachte unbefriedigende Ergebnisse. Er vermochte nur bei 65,7% der

Stämme die Oxacillin-Resistenz und bei 42,9% die Cefazolin-Resistenz aufzudecken, während dies bei Verwendung des Mueller-Hinton-Agars bei 97,1% bzw. 88,6% gelang (Abb. 1 und 2). Die Ursache für die schlechte Nachweis-Empfindlichkeit des DST-Agars für die intrinsische Resistenz ist nicht klar. Vielleicht spielt sein geringer Gehalt an Erdalkalitionen und deren schlechte bakterielle Verwertbarkeit infolge des hohen Phosphat- und Acetatgehaltes dieses Nährbodens dabei eine wichtige Rolle (34). Denn bivalente Kationen können die Expression der intrinsischen Resistenz stark begünstigen. So stiegen die Oxacillin-MHK-Werte heteroresistenter *Staphylococcus aureus*-Stämme nach Supplementierung der einfachen Mueller-Hinton-Bouillon mit Erdalkalitionen auf physiologische Konzentrationen – d. h. 50 mg/l Kalzium und 25 mg/l Magnesium – um das 8- bis 16fache (50). Chelatbildner wie EDTA hingegen vermochten die Methicillin-MHK-Werte heteroresistenter Stämme um das 32- bis über 1024fache zu senken (42). Wegen dieses starken Einflusses der Erdalkalitionen müssen der Mueller-Hinton-Bouillon neben dem Natriumchlorid unbedingt auch Kalziumchlorid und Magnesiumchlorid in physiologischer Konzentration zugesetzt werden, wenn sie zum Nachweis der intrinsischen Resistenz von Staphylokokken eingesetzt wird (50). Möglicherweise ist die Schutzwirkung der bivalenten Kationen u. a. darauf zurückzuführen, daß sie die Membranen der Murosomen stabilisieren. Die Murosomen sind in der Zellwand der Staphylokokken lokalisiert und enthalten die Autolysine, welche normalerweise die Trennung der Tochterzellen bewirken (12, 17, 25). Ihre Membran besteht wahrscheinlich aus negativ geladenen Lipoteichonsäuren und Phospholipiden (z. B. Cardiolipin), welche eine Barriere zwischen den Autolysinen und deren Substrat, dem Peptidoglykan, bilden (7). Die Lipoteichonsäuren haben eine hohe Affinität zum Magnesium (14), so daß es denkbar ist, daß sich Erdalkalitionen in der Murosomen-Membran anreichern und ihre Abdichtung verstärken.

Bei der Untersuchung von drei Oxacillin-resistenten Stämmen mit fünf Testmedien im Agar-Screen-Test zeigte sich gleichfalls die schlechte Eignung des DST-Agars zum Nachweis der intrinsischen Resistenz: Trotz des Zusatzes von 40 g/l Natriumchlorid vermochte keiner der drei Oxacillin-resistenten Stämme auf diesem Agar zu wachsen (Tab. 2).

Was die Resistenzmuster der 35 Isolate mit intrinsischer Resistenz angeht, so wird der Aussagewert der vorliegenden Untersuchungen durch die Vorselektion der Stämme eingeschränkt. Sie waren nach dem Kriterium der gleichzeitigen Gentamicin- und Tetracyclin-Resistenz ausgewählt worden, um den Untersuchungsumfang wegen unserer geringen Laborkapazität zu beschränken und um schnell zu einer Aussage über die Zuverlässigkeit unserer Routinemethode zu kommen. Es muß also berücksichtigt werden, daß es auch Oxacillin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme gibt, die weder gegen Gentamicin noch

gegen Tetracyclin resistent sind und gelegentlich – wenn auch sehr selten – gegen überhaupt kein anderes Antibiotikum (56). In unserem Kollektiv waren alle 35 Oxacillin-, Gentamicin- und Tetracyclin-resistenten Stämme gleichzeitig auch gegen Erythromycin und Co-Trimoxazol unempfindlich (Tab. 3). Möglicherweise wird diese Mehrfachresistenz gleichfalls durch ein in das Chromosom integriertes Plasmid kodiert, wie es für die multiresistenten *Staphylococcus aureus*-Stämme des Raumes Hamburg angenommen wird (10), während die bei uns nur einmal beobachteten Chloramphenicol-Resistenz in der Regel durch freie Plasmide kodiert wird (10, 13, 21). Es ist denkbar, daß die Integration von Resistenzplasmiden in das Chromosom durch den steigenden Einsatz von Chinolonen begünstigt wird. Denn diese Antibiotika eliminieren als sogenannte „curing agents“ die Plasmide aus den Bakterienzellen (55) und könnten dadurch einen Selektionsdruck in Richtung auf ihre chromosomale Integration ausüben (40). Auffallend war jedenfalls die mit 91,4% sehr hohe Quote Ciprofloxacin-resistenter Stämme in unserem Kollektiv, die weltweit nur bei 17% liegen soll (29). Ein im Chromosom festgeschriebenes und damit relativ stabiles Resistenzmuster bringt den Keimen im Klinikmilieu einen entscheidenden Überlebensvorteil (10, 22).

#### Schrifttum:

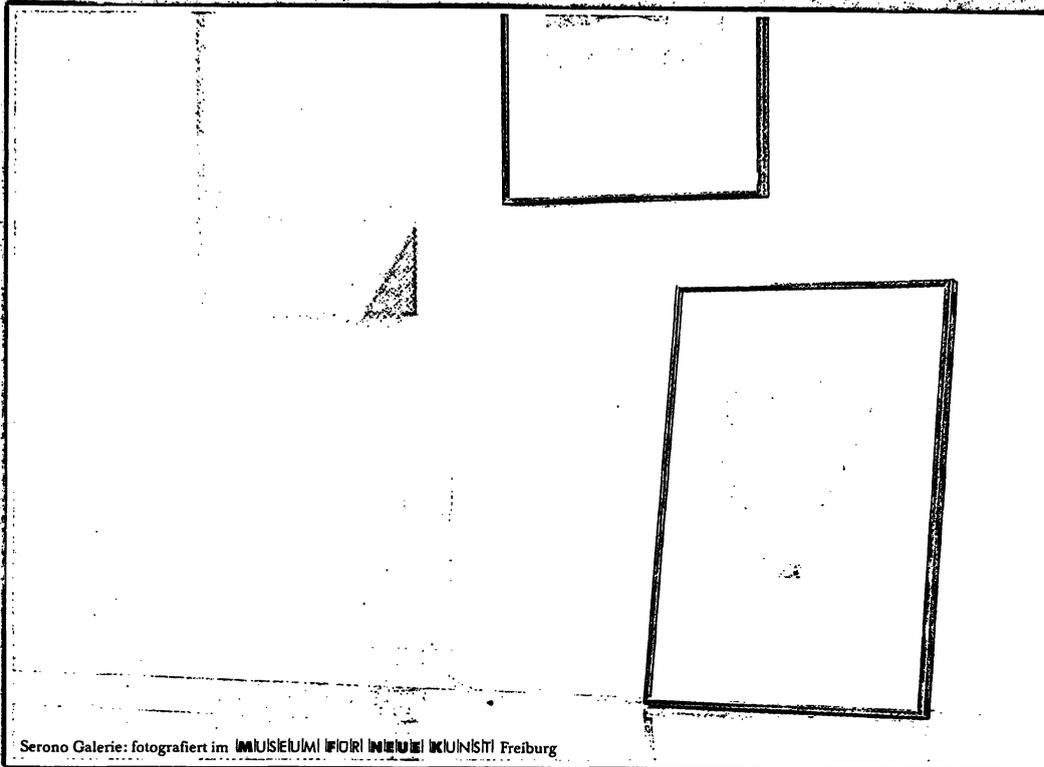
1. ANNEAR, D. I.: The effect of temperature on resistance of *Staphylococcus aureus* to methicillin and some other antibiotics. *Med. J. Aust.* 55, 444–446 (1968).
2. AYLIFFE, G. A., et al.: Guidelines for the control of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 7, 193–201 (1986).
3. BECK, W. D., BERGER-BÄCHI, B., KAYSER, F. H.: Additional DNA in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and molecular cloning of mec-specific DNA. *J. Bacteriol.* 165, 373–378 (1986).
4. BERGER-BÄCHI, B.: Insertional inactivation of tetracycline methicillin resistance by Tn 551. *J. Bacteriol.* 154, 479–487 (1983).
5. BOCKHORST, W., SCHIEK, W.: Abtötung des Agar-Diffusionstestest für die routinemäßige Sensibilitätsprüfung von Bakterien gegen Antibiotika durch Bestimmung der MHK im Mikrotiter-Verfahren. *Lab.med.* 7, 60–65 (1983).
6. BOYCE, J. M., MEDEIROS, A. A.: Role of beta-lactamase in expression of resistance by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 1426–1428 (1987).
7. BRUNS, W., KEPPELER, H., BAUCKS, R.: Suppression of intrinsic resistance to penicillins in *Staphylococcus aureus* by polydocanol, a dodecyl polyethylenoxid ether. *Antimicrob. Agents Chemother.* 27, 632–639 (1985).
8. CHAMBERS, H. F., HACKBARTH, C. J.: Effect of NaCl and nafcillin on penicillin binding protein 2a and heterogenous expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 1982–1988 (1987).
9. DYKE, K. G. H.: Penicillinase production and intrinsic resistance to penicillins in methicillin-resistant cultures of *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 2, 261–278 (1969).
10. GATERMANN, S.: Plasmid finger printing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Hamburg. *Infection* 15, 459–463 (1987).
11. GATERMANN, S., LAUFS, R.: Oxacillin-resistente Staphylokokken in der Routine-diagnostik. *Immun. Infekt.* 15, 110–111 (1987).
12. GIESBRECHT, P., LABISCHINSKI, H., WECKE, J.: A special morphogenetic wall defect and the subsequent activity of „murosomes“ as the very reason for penicillin-induced bacteriolysis in staphylococci. *Arch. Microbiol.* 141, 315–324 (1985).
13. GILLESPIE, M. T., MAY, J. W., SKURRAY, R. A.: Antibiotic susceptibilities and plasmid profiles of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a retrospective study. *J. Med. Microbiol.* 17, 295–310 (1984).
14. HAMMOND, S. M., LAMBERT, P. A., RYCROFT, A. N.: The bacterial cell surface. *Croom Helm Ltd.*, London (1984).
15. HARTMANN, B. J., TOMASZ, A.: Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 158, 513–516 (1984).
16. HARTMANN, B. J., TOMASZ, A.: Expression of methicillin-resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 29, 85–92 (1986).
17. HÖLTJE, J. V.: Das autolytische System von Bakterien: Eine Möglichkeit für eine gezielte antibakterielle Chemotherapie. *Forum Mikrobiol.* 12, 156–161 (1989).
18. KAYSER, F. H.: Genetic and molecular characterisation of resistance determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 9, 137–148 (1976).
19. KAYSER, F. H.: Die Resistenz methicillinresistenter Staphylokokken gegenüber neuen Cephalosporin-Antibiotika. *Infection* 8, 165–170 (1980).
20. KAYSER, F. H., KOHLER, M. L.: Vergleich der antibakteriellen Aktivitäten der Cephalosporine. *Schweiz. med. Wschr.* 114, 156–161 (1984).
21. KAYSER, F. H.: Grundlagen der Methicillinresistenz von Staphylokokken. *Fortschr. antimikr. Antineoplast. Chemother.* 5–8, 1269–1273 (1986).
22. KAYSER, F. H., BERGER-BÄCHI, B., BECK, W. D.: Genetics of multiply-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 7 (Suppl. A), 19–27 (1986).
23. KLOOS, W. E., JORGENSEN, J. H.: *Staphylococci*. Aus *Manual of Clinical Microbiology* von E. H. LENNETTE, A. BALOWS, W. J. HAUSLER u. H. J. SHADOMY. American Society for Microbiology, Washington (1985).
24. KUHL, S. A., PATEE, P. A., BALDWIN, J. N.: Chromosomal map location of the methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 135, 460–465 (1978).
25. LABISCHINSKI, H., MAIDHOF, H., FRANZ, M., KRÜGER, D., SIDOW, T., GIESBRECHT, P.: Biochemical and biophysical investigations into the cause of penicillin-in-

- duced lytic death of staphylococci: Checking predictions of the murosome model. Aus *Antibiotic Inhibition of bacterial cell surface assembly and function* von P. ACTOR, L. DANEO-MOORE, M. L. HIGGINS, M. R. SALTON u. G. D. SHOCKMAN. American Society for Microbiology, Washington (1988).
26. LACEY, R. W.: Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 42, 64–71 (1984).
27. LENZ, W., EILERS, E., LEHMACHER, U.: Charakterisierung von 1974 bis 1983 in der Bundesrepublik Deutschland isolierten methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Lysotypie. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 268, 277–283 (1988).
28. MADIRAJU, M. V. V., BRUNNER, D. P., WILKINSON, B. J.: Effects of temperature, NaCl and methicillin on penicillin-binding proteins, growth, peptidoglycan synthesis and autolysis in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 1727–1733 (1987).
29. MAPLE, P. A. C., HAMILTON-MILLER, J. M. T., BRUMFIT, W.: World-wide antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* I, 537–540 (1989).
30. MARTIN, H. H.: Beta-Laktam-Antibiotika – Aktuelle Aspekte des Wirkungsmechanismus und der bakteriellen Resistenz gegen die Antibiotikagruppe. Aus: *Aktuelle Aspekte der Infektiologie von W. SIEGENTHALER*. G. Thieme (1987).
31. MATEOS-MORA, M., KRAPP, C. C., WASHINGTON, J. A.: Characterization of resistance phenotype and cephalosporin activity in oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32, 170–174 (1988).
32. McDOUGAL, L. K., THORNSBERRY, C.: The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. *J. Clin. Microbiol.* 23, 832–839 (1986).
33. MÜHLENBERG, W., NICOLAI-SCHOLTEN, M. E., MÜLLER-PRASUHN, G., HÖPKE, W.: Über die Abhängigkeit der MHK-Werte von *Pseudomonas aeruginosa* von den Kalzium- und Magnesiumkonzentrationen des Testmediums. *Lab.med.* 8, 105–110 (1984).
34. MÜHLENBERG, W.: Über die Auswirkung der Supplementierung erdalkaliärmer Testmedien mit Kalzium und Magnesium auf das Ergebnis des Bouillon-Verdünnungs- und des Agar-Diffusionstestes von *Pseudomonas aeruginosa*. *Lab.med.* 9, 214–222 (1985).
35. MULLIGAN, M. E., CITRON, D. M., KWOK, R. Y. Y., WHEELOCK, J. P., FARROHI, F. K., HINDLER, J. A., JOHNSTON, L.: Impact of prolonged incubation in disk diffusion susceptibility test results for *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 25, 840–844 (1987).
36. MULLIGAN, M. E., KWOK, R. Y. Y., CITRON, D. M., JOHN, J. F., SMITH, P. B.: Immunoblots, antimicrobial resistance and bacteriophage typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 26, 2395–2401 (1988).
37. MURAKAMI, K., NOMURA, K., DOI, M., YOSHIDA, T.: Production of low-affinity penicillin-binding protein by low- and high-resistant groups of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 1307–1311 (1987).
38. MURAKAMI, K., TOMASZ, A.: Involvement of multiple genetic determinants in high-level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 171, 874–879 (1989).
39. PATTEE, P. A., JONES, J. M., YOST, S. C.: Chromosomal map of *Staphylococcus aureus*. *Genetic Maps* 3, 126–130 (1984).
40. RAHMAN, M., NAIDOO, J., GEORGE, R. C.: New genetic location of gentamicin-resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* II, 1256 (1988).
41. SABATH, L. D., WALLACE, S. J.: Factors influencing methicillin resistance in *Staphylococci*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 182, 258–266 (1971).
42. SABATH, L. D., WALLACE, S. J., BYERS, K., TOFTEGAARD, J.: Resistance of *Staphylococcus aureus* to penicillins and cephalosporins: reversal of intrinsic resistance with some chelating agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 236, 435–443 (1974).
43. SABATH, L. D.: Chemical and physical factors influencing methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 3 (Suppl. C), 47–51 (1977).
44. SABATH, L. D., WHEELER, N., LAVERDIERE, M., BLAZEVIC, D., WILKINSON, B. J.: A new type of penicillin resistance of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* I, 443–447 (1977).
45. SABATH, L. D.: Mechanism of resistance to beta-lactam antibiotics in strains of *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.* 97, 339–344 (1982).
46. SANDERS, C. C.: Failure to detect resistance in antimicrobial susceptibility tests. *Antimicrob. Newsletter* 1, 27–31 (1984).
47. SELIGMAN, S. J.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Newsletter* 4, 142–145 (1982).
48. STORRS, M. J., COURVALIN, P., FOSTER, T. J.: Genetic analysis of gentamicin resistance in methicillin- and gentamicin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* isolated in Dublin hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32, 1174–1181 (1988).
49. THORNSBERRY, C., CARUTHERS, J. Q., BAKER, C. N.: Effect of temperature on the in vitro susceptibility of *Staphylococcus aureus* to penicillinase-resistant penicillins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 4, 263–269 (1973).
50. THORNSBERRY, C., McDOUGAL, L. K.: Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 18, 1084–1091 (1983).
51. THORNSBERRY, C.: Methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci. *Antimicrob. Newsletter* 1, 43–47 (1984).
52. THORNSBERRY, C., JORGENSEN, J. H.: In vitro detection of methicillin-resistant staphylococci. *Eli Lilly* (1985).
53. THORNSBERRY, C.: Antimicrobial susceptibility tests by dilution techniques. U. S. Department of Health and Human Services. Public Health Service, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia 30333.
54. UTSUI, Y., YOKOTA, T.: Role of an altered penicillin binding protein in methicillin- and cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28, 397–403 (1985).
55. WEISSER, J., WIEDEMANN, B.: Elimination of plasmids by new 4-quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28, 700–702 (1985).
56. WELCH, W. D., SOUTHERN, P. M.: Unusual susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to erythromycin, clindamycin, gentamicin and tetracycline at 30° but not at 35°C. *J. Clin. Microbiol.* 19, 831–833 (1984).
57. WIEDEMANN, B.: Resistenzmechanismen bei Staphylokokken. *Fortschr. antimikr. Antineoplast. Chemother.* 5–8, 1263–1267 (1986).
58. WOODS, G. L., YAM, P.: Evaluation of Microscan MIC panels for detection of oxacillin-resistant staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 26, 816–820 (1988).

#### Anschrift des Verfassers:

Dr. med. W. Mühlberg  
 Staatliches Medizinaluntersuchungsamt Hannover  
 Roesebeckstraße 4  
 3000 Hannover 91

# SEROZYME GALERIE MODERNER PERFEKTION.



Serono Galerie: fotografiert im MUSEUM FÜR KUNST FREIBURG

Immuno-

## Immunoassays von Serono Diagnostika.

**Sterilitäts-  
diagnostik**

**hCG SEROZYME**  
**hLH SEROZYME**  
**Progesteron SEROZYME**  
**Prolaktin SEROZYME**

**Schwangerschafts-  
überwachung**

**AFP SEROZYME**  
**HCG SEROZYME**  
**NEU:**  
**17β-Estriol SEROZYME**

**Schilddrüsen-  
diagnostik**

**TSH SEROZYME**  
**T3 SEROZYME**  
**T4 SEROZYME**  
**T3-Uptake SEROZYME**

**Tumordiagnostik/  
Tumornachsorge**

**AFP SEROZYME**  
**CEA SEROZYME**  
**HCG SEROZYME**

**Stoffwechsel/  
Verschiedenes**

**NEU:**  
**Cortisol SEROZYME**  
**Digitoxin SEROZYME**  
**Digoxin SEROZYME**  
**Ferritin SEROZYME**  
**Gesamt-IgE SEROZYME**

Deutschland:  
Serono Diagnostika GmbH  
Postfach 134, D-7800 Freiburg  
Zentrale (07 61) 4 01 67-0

**Serono**  
DIAGNOSTICS

**Erfahrung schafft Fortschritt®**

Österreich:  
Serono Diagnostika GmbH  
Informationsbüro Wien  
Merzweggasse 137 A-1140 Wien  
Wien (02 22) 42 03 78

Ich bitte um Informationen zu:

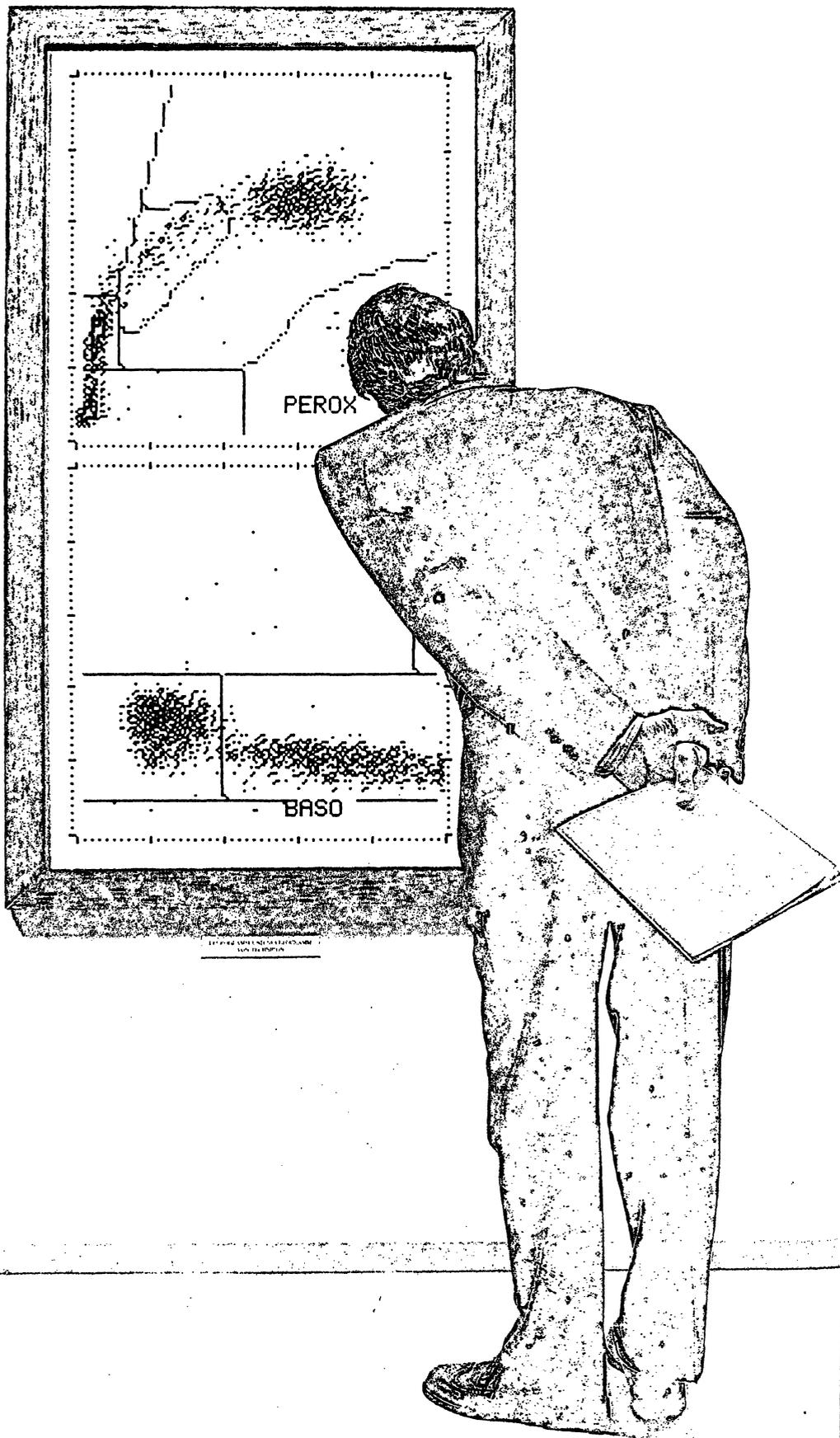
Name

Institut

PLZ/Ort

Straße

SERONO IM



PEROX

BASO

LETTER CASE NO. 1032765-1001  
LITHO IN U.S.A.

# Der Klassiker unter den Blutbildern.

Bereits vor mehr als 15 Jahren brachte Technicon ein neuartiges hämatologisches Meßverfahren auf den Markt: die Durchfluß-Zytochemie für die Leukozytendifferenzierung.

Bis zu diesem Zeitpunkt wurden Differentialblutbilder ausschließlich nach morphologischen Kriterien beurteilt. Das Ergebnis bestand aus schlichten Zahlen. Die neue Methode lieferte eine entscheidende Zusatzinformation: die grafische Darstellung der Leukozyten nach ihrer Größe und Peroxidase-Konzentration, das Leukogramm. Im Gegensatz zu rein physikalischen Techniken liefert das zytochemische Verfahren routinemäßig die Identifizierung von Leukozyten entsprechend ihrer Peroxidase-Aktivität, was sonst die Aufgabe von Speziallabors ist.

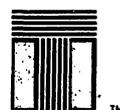
Das heutige TECHNICON H 1-System stellt die dritte Gerätegeneration dar. Die Aussagekraft der Ergebnisse wurde erweitert durch die grafische Darstellung der Zell-

kernanalyse, das Nukleogramm. Beide, Leukogramm und Nukleogramm, ermöglichen eine Art "Blickdiagnose".

Innerhalb kurzer Zeit wurden weltweit mehr als 2.500 TECHNICON H 1-Systeme, davon fast 200 allein in Deutschland, in Betrieb genommen.

Die Darstellung des Prinzips der Durchfluß-Zytochemie und ihrer grafischen Ergebnisse nimmt im "Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie" (Greiling, Gressner, 1989) einen festen Platz ein. Auch die Bibliografie von ca. 300 Publikationen über den TECHNICON H 1 ist ein Beleg für die hervorragende Reputation dieses ausgereiften Differenzierverfahrens.

Wenn Sie mehr über das H 1-System wissen möchten, schreiben Sie uns bitte oder sprechen Sie uns auf der **MEDICA** an: **Halle 5, Stand 5A04** (Bayer Diagnostic und Technicon). TECHNICON GmbH, Im Rosengarten 11, D-6368 Bad Vilbel 1.



**TECHNICON®**

Werte, die zählen.

das ist *Dynamik*

**Es gibt eigentlich nur ein Wort für ein**

**Analysensystem, das zwei Meßmethoden miteinander**

**verbindet, um es mit zu dem flexibelsten und**

**umfassendsten Meßsystem unserer Zeit zu machen.**

**Ein Gerät, das Primärgefäße akzeptiert,**

**bidirektionalen EDV-Anschluß zu externen**

**Computern bietet, schnellste Ergebnispräsentation**

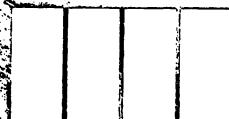
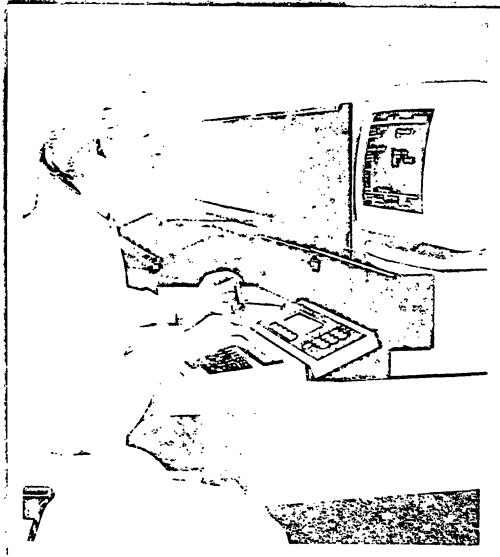
**für „LIFELINE-Tests“ mittels „1-Minuten-Methoden“**

**gewährleistet, über 500 Tests pro Stunde**

**bewältigt, die Notfallproben ohne System-**

**unterbrechung analysiert und letzten Endes**

**noch signifikant Analysenkosten reduziert . . . *Dynamik***



Ein führender Hersteller klin.-chem. Analysensysteme

KONEO MEDIZINTECHNIK  
Niederlassung Deutschland, Feibornstraße 47  
D-2085 Quickborn  
Tel. 04106-29111, Telex 2730668 koned.  
Telefax 04106-60930