

Vergleich von Clumping-Tests für die Staphylokokken-Diagnostik

Comparison of different clumping tests for the differentiation of staphylococci

Christine Braulke, W. Witte

Robert Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes, Bereich Wernigerode

Zusammenfassung:

Fünf verschiedene Testsysteme zur schnellen Differenzierung zwischen Staphylococcus aureus und koagulasenegativen Staphylokokken (KNS), die auf dem Nachweis des Clumping factors und zum Teil von Protein A beruhen, wurden hinsichtlich der Spezifität verglichen. Insgesamt wurden 182 Staphylokokken-Stämme geprüft. Diese setzten sich zusammen aus 66 methicillinempfindlichen Wildstämmen von S. aureus, 10 methicillin-resistenten S. aureus (MRSA) aus jeweils 10 Ausbrüchen von nosokomialen Infektionen und 26 S. aureus-Teststämmen. Von den untersuchten 80 KNS wurden 30 Teststämme verschiedener Spezies und 50 Wildstämme untersucht.

Von den 102 S. aureus-Stämmen reagierten durchschnittlich 84,7% positiv; von den 80 KNS-Stämmen reagierten durchschnittlich 91,3% negativ.

„Falsch-positive“ und „falsch-negative“ Reaktionen traten hauptsächlich bei den Teststämmen auf.

Von 10 MRSA blieb der Klumpungstest bei 1–3 Stämmen in unterschiedlichen Test-Kits negativ.

Schlüsselwörter:

Staphylokokken-Diagnostik – Clumping factor – Schnelltests

Summary:

Five different test kits for rapid differentiation between S. aureus and coagulase negative staphylococci (CNS) were compared for specificity of reaction. Altogether 182 strains consisting of 66 methicillin-sensitive wild strains of S. aureus (MRSA) from 10 outbreaks of nosocomial infections, 26 S. aureus reference strains, 50 wild strains and 30 reference strains of coagulase negative staphylococci were investigated. Of the S. aureus strains, 83% exhibited positive reactions and 91% of CNS negative reactions. "False positive" and "false negative" reactions were mainly observed in reference strains. Among 10 MRSA, 1 to 3 strains remained negative in different test kits.

Keywords:

Staphylococci diagnostics – clumping factor – rapid test

Einleitung

Die Spezies *Staphylococcus aureus* unterscheidet sich von den koagulasenegativen Staphylokokken-Spezies durch die Bildung von Proteinen, die eine Gerinnung von Blutplasma auslösen bzw. mit Fibrinogen reagieren. Es handelt sich dabei um die Koagulase als freies Enzym, das vergleichbar mit der Thrombokinasen Prothrombin in Thrombin umwandelt [1] sowie um den Clumping factor. Es gab frühere Hinweise [2], daß beide nicht identisch sind, die durch eine neue Untersuchung in Frage gestellt wurden [3]. Letztlich hat die genetische Analyse die Verschiedenheit bestätigt [4]. Der Clumping factor ist ein Pro-

tein auf der Zelloberfläche von *S. aureus*, das mit Fibrinogen in Verbindung tritt und dadurch zu einem Verklumpen der *S. aureus*-Zellen führt [5], es wurde früher falsch als „gebundene“ Koagulase bezeichnet. Der Clumping factor hat ein Molekulargewicht von etwa 60 000 D. Das Protein ist reich an basischen Aminosäuren, sein isoelektrischer Punkt liegt zwischen 10,2 und 10,8 [6].

Wegen der einfachen Durchführung und dem unmittelbaren Vorliegen des Testergebnisses wurde der Nachweis des Clumping factors unter Verwendung von Humanplasma früher häufig für die Diagnostik von *S. aureus* eingesetzt. Der erhebliche Nachteil sind hier Fälle von falsch-

positiven Reaktionen bei KNS [8–10]; wahrscheinlich als Folge des Vorhandenseins von Antikörpern gegen KNS-Stämme im Humanplasma.

Inzwischen gibt es verschiedene kommerziell hergestellte Clumping Test-Kits, von denen mehrere zusätzlich den Nachweis von Protein A mit einschließen. Es handelt sich dabei um Partikel-Agglutinationstests (Erythrozyten oder Latex); neben Fibrinogen sind Immunglobulin G oder monoklonale Antikörper gegen Protein A an die Partikeloberfläche gebunden [8, 11–13].

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, verschiedene kommerziell hergestellte Test-Kits hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit und Spezifität miteinander zu vergleichen. Ausgehend von Untersuchungen über das Fehlen des Clumping factors bei methicillinresistenten *S. aureus* [14, 15] wurden dabei auch genotypisch verschiedene Stämme von MRSA (4) aus Ausbrüchen nosokomialer Infektionen in Deutschland untersucht.

Material und Methoden

S. aureus-Stämme (Koagulase-positiv):

- *S. aureus*-Teststämme: *S. aureus* H1, Cowan I, Wood 46, *S. aureus* CCM 885, *S. aureus* des internationalen Basissatzes für die Lysotypie von *S. aureus*
- Lysogruppe I: PS 29, PS 52, PS 52A/79, PS 80
- Lysogruppe II: PS 3A, PS 3C, PS 55, PS 71
- Lysogruppe III: PS 6, PS 42E, PS 47, PS 53, PS 54, PS 75, PS 77, PS 83A, PS 84, PS 85
- *S. aureus*-Stämme für Experimentierphagen: PS 81, PS 94, PS 95, PS 96
- *S. aureus*-Wildstämme ($n = 66$) methicillinempfindliche Stämme vom Menschen aus klinischem und ambulantem Bereich; 10 MRSA-Wildstämme aus 10 Ausbrüchen von Infektionen in verschiedenen Krankenhäusern Deutschlands.

Koagulase-negative Staphylokokken:

- Teststämme
S. arlettae DSM 20672, *S. auricularis* ATCC 33753, *S. capitis* ssp. *capitis* CCM 37234, *S. capitis* ssp. *ureolyticus* ATCC 49326, *S. caprae* CCM 3573, *S. carnosus* DSM 20501, *S. caseolyticus* ATCC 13548, *S. chromogenes* CCM 3387, *S. cohnii* ssp. *cohnii* CCM 2736, *S. cohnii* ssp. *ureolyticus* ATCC 49330, *S. delphini* DSM 20771, *S. epidermidis* CCM 2124, *S. equorum* DSM 20674, *S. felis* ATCC 49168, *S. gallinarum* CCM 3572, *S. haemolyticus* CCM 2737, *S. hominis* DSM 20328, *S. hyicus* CCM 2368, *S. intermedius* CCM 5739, *S. kloosi* DSM 20676, *S. lentus* CCM 2598, *S. lugdunensis* ATCC 4389, *S. muscae* CCM 4175, *S. saprophyticus* CCM 883, *S. schleiferi* ssp. *coagulans* GA 211, *S. schleiferi* ssp. *schleiferi* ATCC 43808, *S. sciuri* ATCC 29062, *S. simulans* CCM 2705, *S. warneri* CCM 2370 und *S. xylosum* CCM 2738.
- KNS-Wildstämme der Spezies *S. epidermidis* (31), *S. haemolyticus* (8), *S. hominis* (1), *S. saprophyticus* (2), *S. capitis* (2), *S. warneri* (1), *S. simulans* (1), *S. lugdunensis* (1) und als koagulasepositiven, aber Clumping factor-negativen Stamm *S. intermedius* (1) aus Blutkultur, Urin, Bronchial-Sekret und Wundinfektionen.

Nährmedien und Präparate:

Mueller-Hinton-Agar von Unipath GmbH Wesel, Deutschland, mit Zusatz von Schafblut 5% zur Kultivierung der Staphylokokkenstämme und zur Beurteilung des Haemolysin-Typs. NaCl-Lösung 0,9%ige in 5 ml Abfüllungen.

0. Human-Plasma flüssig (Blutspendedienst des DRK Sachsen-Anhalt/Institut GmbH Dessau).

Von den kommerziell vertriebenen Haemagglutinations- und Latextests zum Nachweis des Klumpungsfaktors bzw. Protein A wurden geprüft:

1. Staph-aurex, Wellcome Diagnostics, Dartford, England
2. Slidex Staph-Kit bio Merieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich
3. Bacto-Staph-Latex-Test, Difco Laboratories, Detroit, USA

Das Prinzip dieser drei Tests beruht auf Latexpartikeln, die mit Fibrinogen und IgG beschichtet sind. Bei Vermischen einer Staph. aureus-Suspension und diesem Reagenz verklumpen die Latexpartikel durch die Reaktion des Klumpungsfaktors mit Fibrinogen und/oder Protein A mit IgG.

4. Fibrinogen-Institut GmbH Dessau [6], Deutschland
Gereinigtes, stabilisiertes Fibrinogen, welches mit dem Clumping factor reagiert.
5. Bactident Staph-Diagnostik Merck, Darmstadt, Deutschland

Hämagglutinationstest; durch stabilisiertes und mit Hammelerythrozyten sensibilisiertem Fibrinogen kommt es zur Verklumpung mit dem Proteinrezeptor von *S. aureus*.

Methoden

Zum Nachweis des Clumping factor werden Kolonien des zu prüfenden Stammes auf einem Objektträger in einem Tropfen 0,9%iger NaCl-Lösung suspendiert. Dicht neben diesem Tropfen wird ein Tropfen des jeweiligen Präparates (Humanplasma oder Fibrinogen) gesetzt und mit der Bakterien-NaCl-Suspension homogen vermischt. Bei positiver Reaktion kommt es zum Verklumpen der *S. aureus*-Zellen [6].

Die Fibrinogenpräparate sind durch Zusatz von $\text{Na}_3\text{-EDTA}$ (Endkonzentration 5 mM) stabilisiert und von Natriumazid (Endkonzentration 0,02%) konserviert.

$\text{Na}_3\text{-EDTA}$ bindet Calciumionen und inaktiviert damit gegebenenfalls noch vorhandene Spuren von Prothrombin.

Der Nachweis der Koagulase wird wie bei Voigt et al. [5] beschrieben durchgeführt. Der Staph-aurex-Test von Wellcome basiert wie Slidex-Staph bio Merieux und der Staph-Latex-Test von Difco auf einer Kombination von Latex- und Haemagglutinations-Test zum Nachweis des Klumpungsfaktors, Protein A und anderer immunologischer Spezifika von *S. aureus* [11].

Der Bactident-Staph-Test von Merck wird als Haemagglutinations-Test zur schnellen Identifizierung von *S. aureus* beschrieben. Bei der Mischung von *S. aureus*-Stämmen

Tabelle 1: Vergleich von Clumping-Tests in der Staphylokokkendiagnostik

Spezies	Unter- suchte Stämme	0. Humanplasma			1. Staph-aurex			2. Slidex-Staph.			3. Staph-Latex-Test			4. Fibrinogen			5. Bactident-Staph		
		+	pos	neg	±	pos	neg	±	pos	neg	±	pos	neg	±	pos	neg	±	pos	neg
S. aureus, Σ	102	4	92	6	15	84	3	5	95	2	20	80	2	4	89	9	9	89	4
	in %	3,9	90,2	5,9	14,7	82,4	2,9	4,9	93,1	1,9	16,7	78,4	1,9	3,9	87,3	8,8	8,8	87,3	3,9
davon:	26	4	20	2	13	12	1	4	21	1	6	19	1	4	18	4	2	23	1
S. aureus Test-Stämme	in %	15,4	76,9	7,8	50	46,2	3,8	13,4	80,8	3,8	23,0	73,1	3,8	13,4	73,1	13,4	7,8	88,5	3,8
S. aureus Wildstämme	66	0	63	1	1	65	0	1	65	0	10	55	1	0	65	1	6	59	1
	in %		95,5	1,5	1,5	98,5	0	1,5	98,5	0	15,2	83,3	1,5	0	98,5	1,5	9,1	89,4	1,5
MRSA	10	0	7	3	1	7	2	0	9	1	4	6	0	0	6	4	1	7	2
Wildstämme	in %		70	30	10	70	20	0	90	10	40	60	0	0	60	40	10	70	20
KNS, Σ	80	3	4	73	2	2	76	3	7	70	2	4	74	1	3	76	1	2	77
	in %	3,6	5	91,3	2,5	2,5	95	3,8	8,6	87,5	2,5	5	92,5	1,3	3,6	95	1,3	2,5	96,3
davon:	30	3*	4*	23	2*	2*	26	2*	6	22	2*	4*	24	1*	2*	27	1*	2*	27
KNS- Teststämme	in %	10	13,3	76,7	6,7	6,7	86,6	6,7	7,5	73,3	6,7	13,3	80	3,3	6,7	90	3,3	6,7	90
KNS- Wildstämme	50	0*	0*	50	0*	0*	50	1	1	48	0*	0*	50	0*	1	49	0*	0*	50
	in %	0	0	100	0	0	100	2	2	96	0	0	100	0	2	98	0	0	100

± = positiv

0* = S. hyicus CCM 2368; S. delphini DSH 20771; S. hämolyticus CCM 2737; S. lugdunensis ATCC 43809

1* = S. auricularis ATCC 33753; S. muscae CCM 4175

2* = S. schleiferi ssp. coagulans GA 211; S. sciuri ATCC 29062

3* = S. lugdunensis ATCC 43809; S. schleiferi ssp. schleiferi ATCC 43808

4* = S. delphini DSM 20771

6* = S. schleiferi ssp. coagulans GA 211

0* = S. capitis ssp. ureolytic ATCC 49326; S. cohnii ssp. ureolytic ATCC 49330; S. gallinarum CCM 3572; S. schleiferi ssp. coagulans GA 211

1* = S. cohnii ssp. ureolyticus. ATCC 49330; S. schleiferi ssp. coagulans GA 211

2* = S. auricularis ATCC 33753; S. cohnii ssp. ureolyticus. ATCC 49330; S. delphini DSM 20771; S. hämolyticus CCM 2737; S. lugdunensis ATCC 43809; S. muscae CCM 4175

3* = S. cohnii ssp. ureolytic ATCC 49330; S. delphini DSM 20771; S. schleiferi ssp. coagulans GA 211; S. sciuri ATCC 29062

4* = S. cohnii ssp. ureolyticus. ATCC 49330; S. sciuri ATCC 29062

6* = S. cohnii ssp. ureolyticus. ATCC 49330; S. lugdunensis ATCC 43809

mit stabilisierten und durch Fibrinogen sensibilisierten Hammel-Erythrozyten tritt daher eine Agglutination auf. Eine negative Kontrolle mit nicht sensibilisierten Erythrozyten wird mitgeführt. Der Unterschied zwischen dem Latex-Test (Staph-aurex, Wellcome; Slidex-bioMerieux; Bacto-Staph-Latex-Difco) und dem Haemagglutinations-Test (Fibrinogen Dessau und Bactident-Staph-Diagnostica Merck) liegt im Trägermaterial des Fibrinogens bzw. des IgG (Immun-gamma-Globulin). Statt Hammelblut-Erythrozyten werden Latexpartikel verwendet.

Ergebnisse

Die Daten der Vergleichsuntersuchungen zum Nachweis des Clumping factors unter Verwendung 5 verschiedener kommerziell angebotener Tests und zusätzlich die Humanplasma-Agglutination sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Bei der Auswertung der Tests wurde zwischen positiver Reaktion (pos.), schwach positiver Reaktion (±) und negativer Reaktion (neg.) unterschieden. Neben den fertigen Test-Kits wurde auch Humanplasma eingesetzt.

S. aureus: Für alle untersuchten 102 S. aureus-Stämme insgesamt liegen die positiven Reaktionen im Bereich von 82,4% (Staph-aurex Wellcome) bis 93,1% (Slidex-Staph).

Unterscheidet man zwischen den über längere Zeit im Laboratorium subkultivierten Test- und Wildstämmen, dann betreffen die negativen bzw. fraglichen (±) Reaktionen bei S. aureus vor allem die Teststämme, wenn man von den Test-Ergebnissen bei Bactident Merck absieht. Auch bei MRSA-Wildstämmen gibt es für die einzelnen Test-Kits unterschiedlich häufige Reaktionsausfälle; dabei die geringsten im Slidex-Staph. Test.

Wie Tabelle 2 ausweist, handelt es sich bei den Teststämmen zumeist um den gleichen Stamm, der negativ reagiert; bei den methicillinempfindlichen Wildstämmen und den MRSA sind es teilweise die gleichen Stämme, die in Tabelle 2 durch ihr Lysisbild charakterisiert sind.

Koagulase-negative Staphylokokken: Der Vergleich von Teststämmen insgesamt ist hier wenig aussagekräftig, weil nicht alle der bei den Teststämmen vorkommenden Spezies vertreten sind. Die Wildstämme repräsentieren die häufigsten, an Infektionen beim Menschen beteiligten KNS-Spezies, es gibt nur wenige „falsch-positive“ Reaktionen. Bei den Teststämmen zeigt S. cohnii ssp. ureolyticus ATCC 49330 eine „falsch-positive“ Reaktion bei allen untersuchten Kits. Die Teststämme S. lugdunensis ATCC 43809 und S. delphini DSM 20771 zeigen teilweise „falsch-

Tabelle 2: *S. aureus*-Stämme mit falsch-negativen Reaktionen im Vergleich der verschiedenen Clumping-Tests

Spezies	0. Humanplasma	1. Staph-aurex	2. Slidex-Staph.	3. Staph-Latex-Test	4. Fibrinogen	5. Bactident-Staph
<i>S. aureus</i> Teststämme	Wood 46 PS 3A — — CCM 885	Wood 46 — — — —	Wood 46 — — — —	Wood 46 — — — —	Wood 46 PS 3A PS 3C PS 83A —	Wood 46 — — — —
<i>S. aureus</i> Wildstämme	1202/92 o.H. Lb: 3C,+ 100xRTD	1202/92 o.H. Lb: 3C,+ 100xRTD	1202/92 o.H. Lb: 3C,+ 100xRTD	1202/92 o.H. Lb: 3C,+ 100xRTD	1202/92 o.H. Lb: 3C,+ 100xRTD	1202/92 o.H. Lb: 3C,+ 100xRTD
MRSA	108/83/Lb: 54,85 100xRTD 802/92/Lb: NT 738/92Lb: NT	802/92/Lb: NT 811/92/Lb: 77 RTD	711/92/Lb: 77,A 994 RTD		711/92/Lb: 77,A994 RTD 629 100xRTD 802/92/Lb: NT 802/92/Lb: NT* 811/92/Lb: 77 RTD 738/92/Lb: NT*	711/92Lb: 77,A994 RTD 802/92/Lb: NT*

*NT = nicht typisierbar mit dem internationalen Basissatz für humane Staphylokokken
Lb = Lysisbild

Tabelle 3: KNS-Stämme mit falsch-positiven Reaktionen im Vergleich der verschiedenen Clumping-Tests

Spezies	0. Humanplasma	1. Staph-aurex	2. Slidex-Staph.	3. Staph-Latex-Test	4. Fibrinogen	5. Bactident-Staph
KNS-Teststämme	<i>S. capitis</i> ssp. ureolyticus ATCC 49326 <i>S. cohnii</i> ssp. ureolyticus ATCC 49330 <i>S. gallinarum</i> CCM 3572 <i>S. schleiferi</i> ssp. coagulans GA 211	<i>S. cohnii</i> ssp. ureolyticus ATCC 49330 <i>S. schleiferi</i> ssp. coagulans GA 211	<i>S. cohnii</i> ssp. ureolyticus ATCC 49330 <i>S. auriculans</i> ATCC 33753 <i>S. delphini</i> DSM 20771 <i>S. haemolyticus</i> CCM 2737 <i>S. lugdunensis</i> ATCC 43809 <i>S. muscal</i> CCM 4175	<i>S. cohnii</i> ssp. ureolyticus ATCC 49330 <i>S. schleiferi</i> ssp. coagulans GA 211 <i>S. delphini</i> DSM 20771 <i>S. sciuri</i> ATCC 29062	<i>S. cohnii</i> ssp. ureolyticus ATCC 49330 <i>S. sciuri</i> ATCC 29062	<i>S. cohnii</i> ssp. ureolyticus ATCC 29062 <i>S. lugdunensis</i> ATCC 43809 <i>S. epidermidis</i> Nr. BP 208/92
KNS-Wildstämme			<i>S. epidermidis</i> Nr. BP 208/92		<i>S. sciuri</i> ATCC 29062 <i>S. epidermidis</i> Nr. BP 208/92	

positive“ Reaktionen (Tabelle 3). Die gleichen Teststämme zeigen dann in anderen Test-Kits fragliche (±) Reaktionen.

Diskussion

Im Vergleich zwischen den untersuchten Wildstämmen und den Teststämmen von *S. aureus* fällt auf, daß Teststämme häufiger nur schwach reagieren. Das ist ein Hinweis darauf, daß möglicherweise die Ausprägung von Proteinen die bei *S. aureus* der Zellwand aufgelagert sind,

im Zuge der Subkultivierung im Laboratorium nachläßt. Bei den untersuchten methicillinempfindlichen *S. aureus*-Wildstämmen reagierte die Mehrzahl positiv. Die nur schwache Reaktion von 6 der 66 *S. aureus* Wildstämme mit dem Bactident-Test ist nicht damit zu erklären, daß dieser Test nur auf dem Nachweis des Clumping factors beruht; da dies für Fibrinogen-Dessau nicht zutrifft. Der Clumping factor als Speziesmerkmal für *S. aureus* ist bei MRSA offensichtlich problematisch; lediglich der Slidex-Staph-Test zeigte 9 von 10 Stämme als positiv an. Über

Tabelle 4: Sensitivität und Spezifität von *S. aureus*-, MRSA- und KNS-Wildstämmen

Spezies	0. Humanplasma	1. Staph-aurex Wellcome	2. Slidex-Staph.	3. Staph-Latex- Test	4. Fibrinogen Dessau	5. Bactident-Staph Merck
Sensitivität: (in %)						
<i>S. aureus</i> - Wildstämme	98,4	100	100	98,2	100	98,3
MRSA- Wildstämme	70	77,7	90	100	60	77,7
Spezifität: (in %)						
KNS- Wildstämme	100	100	97,9	100	98	100

diese Schwierigkeiten wird auch von anderen Autoren berichtet [16, 17]. In der Praxis klinisch bakteriologischer Laboratorien besteht die Gefahr, daß bei Isolierung aus Materialien, bei denen koagulase-negative Staphylokokken als Kontaminanten wahrscheinlich sind (z. B. Wundabstriche von Wundinfektionen ohne Zusammenhang mit Alloimplantaten) mit dem Clumping-Test als Kriterium für *S. aureus*, MRSA als solche nicht erkannt werden. Wenn das Grampräparat vom Originalausstrich und die Originalplatten-Kultur für Staphylokokken als wahrscheinlichen Erreger sprechen, empfiehlt sich die Durchführung des Röhrchentests für die Koagulase. Der Anteil von MRSA liegt bei *S. aureus* aus nosokomialen Infektionen in Deutschland bisher um 2–3%; es gibt aber auch Ausbrüche von Infektionen in größeren Krankenhäusern [18, 19]. Wegen ihrer besonderen epidemiologischen Bedeutung [19], ist das rechtzeitige Erkennen des Auftretens von MRSA außerordentlich wichtig.

Eine ausreichende Spezifität zeigen die verschiedenen Test-Kits bei den 50 getesteten KNS-Wildstämmen. Bei den Teststämmen kommen Vertreter bestimmter Spezies vor, die für alle oder einige Kits nur schwach positive Reaktionen anzeigen. Dies trifft zu für den Stamm *S. cohnii* ssp. *ureolyticus*, für Stämme von *S. lugdunensis* und *S. schleiferi*. Für beide letztgenannten Spezies wird in den Speziesbeschreibungen die Möglichkeit der positiven Verklumpungsreaktion erwähnt [20]. Einige KNS-Spezies, wie *S. capitis*, besitzen plasmaproteinbindende Faktoren [21], reagieren aber nicht im Latextest. Führt man in der Routinediagnostik den Clumping-Test durch, kann man derartige, wenn auch aufgrund der Speziesverteilung von koagulasenegativen Staphylokokken bei Isolierung aus klinischen Materialien seltene Unsicherheiten nicht ausschließen. In der Tabelle 4 sind Sensitivität und Spezifität der *S. aureus*-, MRSA- und KNS-Wildstämmen in den verschiedenen Tests dargestellt.

Schrifttum:

1. Unsell, W. D., Goriell, R. H. (1951) The effect of heat and sodium ethylmercuri-thiosalicylate on the Staphylocoagulasetest. *J. Clin. Path.* 4, 73–77.
2. Duthie, E. S. (1954) Evidence for two forms of staphylococcal coagulase. *J. Gen. Microbiol.* 10, 427–436.
3. Becker, H., Zaadhof, K. J., Terplan, G. (1987) Zur Charakterisierung von *S. aureus*-Stämmen des Rindes unter besonderer Berücksichtigung des Klumpungsfaktors. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 38, 1–32.

4. McDewitt, D., Vandaux, P., Foster, T. J. (1992) Genetic evidence that bound coagulase of staphylococcus aureus is not clumping factor. *Infect. and Immun.* 4, 1514–1523.
5. Voigt, W., Witte, W., Barth, F. (1980) Standardisierung der Plasmakoagulase-reaktion für die Speciesdiagnostik von Staphylococcus aureus. *Z. ges. Hyg.* 26, 96–98.
6. Witte, W., Braulke, Ch., Wicke, G., Halle, E. (1988) Nachweis des Verklumpungsfaktors mit stabilisiertem Fibrinogen für eine schnelle Diagnostik von *S. aureus*. *Z. Klin. Med.* 43, Heft 15, 1333–1335.
7. Zaidel, et al. (1973) Mechanism of action of Staphylocoagulase and clumping factor. *Proceedings of the Internat. Symposium health in Warszawa, Poland.*
8. Essers, L., Radebold, K. (1980) Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus by a latex agglutination test. *J. Clin. Microbiol.* 12, 641–643.
9. Mehl, R., Starke, R. (1987) Klumping-Test zur Differenzierung von Staphylococcus aureus und Staphylococcus epidermidis. *Z. med. Lab. Diagn.* 28, 326–330.
10. Subcommittee on taxonomy of Staphylococci and micrococci (1965). *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon* 15, 109–110.
11. Fleurette, J. (1990) Staphylocoques et micrococques in L. Le Minor, M. Veron, *Bacteriologie medicale*, 2^e édition, Flammarion.
12. Jeljaszewicz, J., Switalski, L. M., Adam, C. (1983) Staphylocoagulase and Clumping Factor: Easmon, C. S. F., Adlam, C., eds. *Staphylococci and staphylococcal infections*, Vol. 2, London: Academic Press, pp. 525–527.
13. Data on file, Difco Laboratories, Inc.
14. Bodén, M. K., Flock, J.-L. (1989) Fibrinogen-binding protein/clumping factor from Staphylococcus aureus. *Infect. Immun.* 57, 2358–2363.
15. Punslang, A., Migneault, P., Nolte, F. S. (1986) Reliability of Latex-agglutination-tests for identification of Staph. aureus resistant to Oxacillin. *J. Clin. Microbiol.* 24, 1104–1106.
16. Rossney, A. S., English, L. F., Keane, C. T. (1990) Coagulase testing compared with commercial kits for routinely identifying Staphylococcus aureus. *J. Clin. Pathol.* 43, 246–252.
17. Berke, A., Tilton, R. (1986) Evaluation of rapid coagulase methods for the identification of Staph. aureus. *J. Clin. Microbiol.* 23, 916–919.
18. Voss, A., Machka, K., Lenz, W., Milatovic, D. (1992) Vorkommen, Häufigkeit und Resistenzverhalten von Methacillin-Oxacillin-resistenten Staphylococcus-aureus-Stämmen in Deutschland. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 117, 1907–1912.
19. Witte, W., Braulke, C., Cuny, C. (1992) Mehrfachresistente Staphylokokken; Auftreten und Verbreitung. *Chemotherapie Journal* 1, 17–23.
20. Herbert, G. A. (1990) Hemolysis and Other Characteristics That Help Differentiate and Biotype Staphylococcus lugdunensis and Staphylococcus schleiferi. *Journ. Clin. Microb.* 28/11, 2425–2431.
21. Osland, A. (1982) *Acta path. microbiol. immunol. scand. sec. t. B* 90, 197.

Danksagung

Der med.-techn. Assistentin Petra Vilbrandt und Dorothea Eitze gilt unser Dank für ihre fleißige und exakte Mitarbeit.

Anschrift der Verfasser:

Dipl.-Ing. Christine Braulke
Dr. habil. Wolfgang Witte
Robert Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes
Bereich Wernigerode
Burgstraße 37
O-3700 Wernigerode