

# Acinetobacter – eine Gattung mit vielen neuen Spezies: Klinische Bedeutung und Praxis der Identifizierung

Acinetobacter – a genus with many new species: clinical significance and practice of identification

L. Zabel<sup>1,2</sup>

## Zusammenfassung

Acinetobacter-Spezies werden in den letzten Jahren zunehmend häufig als nosokomiale Infektionserreger, die sich durch multiple Antibiotikaresistenz auszeichnen, isoliert.

Während nach der älteren Klassifikation klinische Isolate meist als *Acinetobacter calcoaceticus* eingeordnet wurden, läßt sich nach der neueren molekularbiologisch gestützten Taxonomie *Acinetobacter baumannii* bei menschlichen Infektionen am häufigsten nachweisen.

Da *Acinetobacter*-Spezies ubiquitär vorkommen und auch in der menschlichen Normalflora angesiedelt sind, gelten sie als opportunistische Keime.

Die neuere Taxonomie unterscheidet achtzehn Genospezies einschließlich sechs Nomenspezies, die auch nach phänotypischen Eigenschaften unterschieden werden können. Schwierigkeiten bestehen immer noch bei der Speziesdiagnose mit Hilfe kommerzieller Identifizierungssysteme, so daß auf zusätzliche Assimilationsreaktionen und Wachstumskontrollen bei Temperaturen von 41° C und 44° C nicht verzichtet werden kann.

## Schlüsselwörter

Acinetobacter – nosokomiale Infektion – Antibiotikaresistenz – Identifizierung

## Summary

In recent years, *Acinetobacter* species have been isolated with increasing frequency as causative agents of nosocomial infections; these organisms are characterized by resistance against a variety of antibiotics.

In former years, *Acinetobacter calcoaceticus* was the sole species designation in use in clinical microbiology laboratories. According to a more recent classification based on molecular biology data, *Acinetobacter baumannii* represents the predominant isolate from human infections. As *Acinetobacter* species can be recovered from a variety of environmental sources and human normal flora, they are considered as opportunistic pathogens.

In current taxonomy, eighteen genospecies including six nomenspecies are differentiated, the latter being identifiable by phenotypic characters. Differentiation of clinical isolates by means of commercially available identification systems remains cumbersome. Additional tests, like various carbon assimilation assays and tests for growth at 41° C and 44° C, are required for further differentiation.

## Key words

Acinetobacter – nosocomial infection – antibiotic resistance – identification

## Einleitung

Die moderne mikrobiologische und molekularbiologische Forschung hat dazu geführt, daß einerseits zahlreiche Bakterienarten neu beschrieben wurden und sich andererseits innerhalb bekannter Arten neue biologische Entitäten (Spezies) abgrenzen ließen. Bei rezenten Neubeschreibungen wie *Legionella* spp. oder *Helicobacter* spp. ergab sich im Laufe weniger Jahre ein enormer Informationszuwachs, jedoch ohne wesentliche Verwechslungsmöglichkeiten alter und neuer Entitäten.

Anders steht es mit den Konsequenzen der molekularbiologischen Aufarbeitung älterer „Großspezies“. Da nach den internationalen bakteriologischen Nomenklaturregeln

<sup>1</sup> Abteilung für Medizinische Mikrobiologie  
Hygieneinstitut der Universität Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. H. Werner)

<sup>2</sup> Korrespondenzadresse:  
Dr. med. Lutz Zabel,  
Hygiene Institut der Universität Tübingen,  
Abteilung Medizinische Mikrobiologie,  
Sicherstraße 7, D-72076 Tübingen

der Name der jeweiligen Typspezies beibehalten werden muß, ergibt sich eine Konstellation, in der die ältere Großspezies nur noch pro parte identisch mit der neu definierten und meist eingeeengten Spezies gleichen Namens ist; daneben sind nunmehr mehrere neue Spezies definiert, die vorher unter der älteren, bis vor kurzem benutzten Großspezies-Bezeichnung subsumiert waren.

Für das diagnostisch-mikrobiologische Laboratorium wird die Situation dann besonders verwirrend, wenn die ursprüngliche Typspezies einer medizinisch wichtigen Gattung durch die neueste taxonomische Forschung in den Rang einer Rarität versetzt wird. Dies trifft in besonderem Maß auf *Acinetobacter calcoaceticus* zu.

### Taxonomie der Gattung

*Acinetobacter* besitzt keine eindeutigen Charaktereigenschaften, die eine Identifizierung auf phänotypischer Basis möglich machen. Vielmehr ist die Gattung aus einer Vielzahl von fehlenden Eigenschaften definiert (unbeweglich, nichtfermentativ, oxidase-negativ, fehlende Nitratreduktion). Deshalb ist es auch nicht überraschend, daß zahlreiche Namen benutzt wurden, um die jetzige Gattung *Acinetobacter* zu beschreiben, wie z. B. *Bacterium* [1], *Herellea* [2], *Mima* [2], *Moraxella* [3], *Achromobacter* [4], *Neisseria* [5], *Micrococcus* [6].

Schaub und Hauber [1] schlugen 1948 den Namen *Bacterium anitratum* vor. Das Epithetum *anitratum* wurde gewählt, weil das Bakterium kein Nitrat zu Nitrit reduzieren konnte.

Brisou und Prevot [7] wählten 1954 den Gattungsnamen *Acinetobacter* für unbewegliche gramnegative kokkoide Stäbchen, die in der ersten Ausgabe von Bergey's Manual 1923 [8] noch als *Achromobacter* bezeichnet wurden. Die Gattung *Acinetobacter* enthielt damals sowohl oxidase-positive wie auch oxidase-negative Stämme.

1968 zogen Baumann et al. [9] den Schluß, daß alle oxidase-negativen Stämme einer Gattung zuzuordnen seien

und faßten in die Gattung *Acinetobacter* nur die oxidase-negativen Stämme zusammen. Dementsprechend lautete dann auch der Vorschlag des Subkomitees für die Taxonomie von *Moraxella* und verwandte Bakterien 1971 [10].

In Bergey's Manual von 1984 [11] wurde die Gattung *Acinetobacter* in die Familie der *Neisseriaceae* aufgenommen und enthielt eine Spezies (damit Typspezies) *calcoaceticus* (Erstbeschreiber Beijerinck 1911) mit einer Varietät *anitratum* für glucoseverwertende und Varietät *lwoffii* für nichtglucoseverwertende Stämme. Allerdings war schon damals ersichtlich, daß die Grenzen zwischen beiden Varietäten fließend waren.

1987 schlugen Bouvet und Grimont [12] eine neue Klassifikation vor:

Die Autoren untersuchten 85 *Acinetobacter*-Stämme mittels DNA-Hybridisierung und konnten hierauf basierend die Gattung *Acinetobacter* in 12 Genomtypen (Genospezies) unterteilen.

Die Typspezies *calcoaceticus* entsprach Genospezies 1 (Nomenspezies *calcoaceticus*). Anhand von 28 phänotypischen Eigenschaften differenzierten Bouvet und Grimont 266 Stämme und konnten 255 davon den 12 Genomtypen zuordnen.

Wurden früher die Keime nach phänotypischen Eigenschaften beschrieben und eingeteilt, ging man hier nach modernen wissenschaftlichen Methoden vor. Die Einteilung erfolgte in DNA-Gruppen mittels DNA-Homologie-Studien. Den DNA-Gruppen wurden jetzt phänotypische Eigenschaften zugeordnet, nach denen es möglich sein sollte, die einzelnen Gruppen auch ohne aufwendige DNA-Hybridisierung zu identifizieren.

Im Gegensatz zu früher war der Glucoseabbau zur Säure nicht mehr für eine taxonomische Einteilung entscheidend, vielmehr bekam der Ausfall von wesentlich mehr Assimilationsreaktionen Bedeutung (Tabelle 1).

1988 wurde die neue Spezies *A. radioresistens* von Nishimura et al. [13] beschrieben, die im übrigen mit der Genospezies 12 von Bouvet und Grimont gleichzusetzen ist [14].

**Tabelle 1.** Wesentliche phänotypische Merkmale der von Bouvet und Grimont 1986 [12] differenzierten Spezies. + bedeutet alle untersuchten Stämme waren positiv bezüglich des untersuchten Merkmals, – bedeutet alle untersuchten Stämme waren bezüglich des untersuchten Merkmals negativ. Die Zahlen geben die Prozentwerte der positiven Stämme an, wenn die Stämme nicht einheitlich reagierten.

Acinetobacter/ Genospezies	DNA- Gruppe	Wachstum 41/44° C	Glukose	Hämolyse	Gelatine Hydrolyse	β-Alanin	Citrat	Glutarat	DL-Lactat	Malonat
calcoaceticus	1	-/-	+	-	-	+	+	+	+	+
baumannii	2	+/+	95	-	-	95	+	+	+	98
no name	3	+/-	+	-	-	94	+	+	+	87
haemolyticus	4	-/-	52	+	96	-	91	-	-	-
junii	5	90/-	-	-	-	-	82	-	+	-
no name	6	-/-	66	+	+	-	+	-	-	-
johnsonii	7	-/-	-	-	-	-	+	-	+	13
lwoffii	8,9	-/-	6	-	-	-	-	-	+	-
no name	10	-/-	+	-	-	+	+	+	+	-
no name	11	-/-	-	-	-	+	+	+	+	-
no name	12	-/-	33	-	-	-	-	+	+	+

Die Arbeitsgruppe von Tjernberg und Ursing [14] klassifizierte 1989 drei neue Genospezies und fasste die Genospezies 8 und 9 wegen fehlender Unterscheidungsmerkmale zusammen.

Auch Bouvet und Jeanjean berichteten 1989 über fünf neue Genospezies [15], wobei eine Genospezies einer von Tjernberg und Ursing beschriebenen entsprach.

Gerner-Smidt et al. [16] untersuchten 1991 181 Acinetobacter-Stämme anhand der von Bouvet und Grimont aufgestellten phänotypischen Differenzierungsmerkmale und konnten 141 korrekt identifizieren. Es stellte sich heraus, daß Stämme der Genospezies 13 häufig den Genospezies 2 und 3 zugeordnet wurden; die Autoren postulierten, auch aufgrund der Ergebnisse der DNA-Hybridisierung, eine enge Verwandtschaft unter diesen Gruppen.

Damit wurden bis jetzt achtzehn einzelne Genospezies unterschieden, die es auch nach phänotypischen Eigenschaften zu unterscheiden galt.

### Phänotypische Speziesdifferenzierung

Das Genus Acinetobacter läßt sich nun folgendermaßen definieren:

Es handelt sich um gramnegative, unbewegliche (akinetos), kokkoide Stäbchen von 1,5 bis 2,5 µm Länge und 1 bis 1,5 µm Durchmesser, die kugelförmig und paarig aber auch in Ketten unterschiedlicher Länge vorkommen können. Die Gattung Acinetobacter wächst strikt

aerob bei Temperaturen zwischen 20 – 37° C. Wachstum bei 41° C und 44° C kann vorkommen und als Differenzierungsmerkmal zur Speziesdiagnose verwendet werden. Gemeinsames biochemisches Merkmal der Acinetobacter spp. und damit Gattungsmerkmal ist die negative Oxidasereaktion (Differentialdiagnose zu anderen Nonfermentern und den Neisserien), positive Katalase-, negative Indol- und Nitratreaktion sowie die Unfähigkeit Glukose zu fermentieren. Die Morphologie und der Nachweis der Unbeweglichkeit im hängenden Tropfen ist neben den vorgenannten Reaktionen für die schnelle Diagnose der Gattung von Wert.

Acinetobacter spp. wachsen auf den meisten gebräuchlichen Nährmedien. Auf Schafblutagar bilden sie nach einem Tag 2–3 mm große, glatte, pigmentlose Kolonien. Auf lactosehaltigem Agar wachsen sie als lactose-negative Kolonien.

Im Gegensatz zu Moraxellen werden Acinetobacter spp. durch Penicillin nicht gehemmt.

Die Speziesdiagnose wird mit Hilfe von biochemischen Assimilationsreaktionen und Wachstumsverhalten bei verschiedenen Temperaturen gestellt. Die konventionelle Bunte-Reihe sollte bis zu sechs Tagen bebrütet werden, da viele Stämme erst nach längerer Bebrütung positive Ergebnisse zeigen [16]. Wichtiges Untersuchungsmerkmal ist hier die Glucoseverwertung.

Tabelle 1 und 2 zeigen, daß A. calcoaceticus sensu stricto, A. baumannii, eine (noch) nicht benannte dritte Genospezies sowie Genospezies 13 in der Lage sind, Glu-

**Tabelle 2.** Spezies-Differenzierung anhand phänotypischer Eigenschaften nach Gerner-Smidt et al. 1991 [16]. Die Zahlen geben die Prozentwerte der positiven Stämme an. ND bedeutet „nicht getestet“.

Test	Genospezies der Gattung Acinetobacter														
	1	2	3	4	5	6	7	8/9	10	11	12	13	14	15	
44° C	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73	0	0	
41° C	10	100	60	48	76	0	0	8	0	0	14	100	0	50	
37° C	80	100	100	100	100	50	0	77	100	0	100	100	25	100	
Glukose	100	96	100	76	0	100	0	19	100	0	5	100	100	50	
Gelatine	0	0	0	90	0	100	0	0	0	0	0	0	100	0	
Hämolysse Schafblut	0	0	0	95	38	100	0	0	0	0	0	0	100	0	
Hämolysse Menschenblut	0	0	0	95	62	100	0	0	0	0	0	0	100	0	
DL-Lactat	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100	100	93	100	50	
DL-4-Amino-Butyrat	100	100	100	95	86	0	60	88	100	71	100	93	50	50	
trans-Aconitat	100	100	95	76	0	0	0	4	33	14	0	67	25	0	
Citrat	100	100	100	76	86	100	90	12	100	100	0	100	100	0	
Glutarat	90	100	85	0	0	0	0	0	100	100	91	93	25	0	
Aspartat	100	100	100	33	5	50	75	0	100	100	9	93	25	0	
Azelat	100	100	90	5	14	0	50	100	100	100	95	93	25	100	
β-Alanin	90	96	95	0	0	0	0	0	100	100	0	93	75	0	
L-Histidin	100	100	100	100	90	100	0	0	100	100	0	93	100	0	
D-Malat	90	100	100	100	100	50	95	58	100	100	9	93	100	100	
Malonat	100	100	100	0	0	0	20	0	0	14	95	33	75	0	
Histamin	0	0	0	0	0	0	0	0	67	86	0	0	25	0	
L-Phenylalanin	100	80	65	0	0	0	0	0	0	0	91	93	100	0	
Lävulinat	60	40	0	ND	ND	ND	ND	ND	0	0	ND	0	ND	ND	
Citronat	30	52	5	ND	ND	ND	ND	ND	0	0	ND	0	ND	ND	
4-Hydroxy-Benzoat	100	96	95	ND	ND	ND	ND	ND	100	71	ND	93	ND	ND	
L-Tartrat	50	40	90	ND	ND	ND	ND	ND	0	0	ND	0	ND	ND	

cose oxidativ zu spalten, aber auch *A. haemolyticus* und eine sechste, zehnte und vierzehnte (noch) nicht benannte Spezies. Die ersteren vier lassen sich von den letzteren vier durch fehlende Gelatinehydrolyse abgrenzen.

*A. calcoaceticus sensu stricto*, *A. baumannii*, die dritte und dreizehnte Genospezies lassen sich untereinander biochemisch nicht eindeutig unterscheiden. Hier kann das Wachstumsverhalten bei unterschiedlichen Temperaturen hilfreich sein. *A. calcoaceticus sensu stricto* wächst bei Temperaturen von 41° C und 44° C nicht mehr, während *A. baumannii* bei beiden Temperaturen wächst und die Genospezies 3 zwar bei 41° C aber nicht mehr bei 44° C Wachstum zeigt. Genospezies 13 verhält sich im wesentlichen wie *A. baumannii*.

Die Prüfung des Wachstumsvermögens bei verschiedenen Temperaturen ist jedoch abhängig vom benutzten Agar. Gerner-Smidt et al. [16] empfahlen 1991 die Verwendung von Brain-Heart-Infusion-Agar. Bebrütet wird in einem Wasserbad bei den angegebenen Temperaturen.

Für die Routinediagnostik mögen diese Unterscheidungskriterien ausreichen, für differenziertere Untersuchungen sollte über DNA-Hybridisierungen eine eindeutige Differenzierung erfolgen. Einige Autoren empfehlen jedoch, mangels eindeutiger Differenzierungsmerkmale die Genospezies 1, 2, 3 und 13 zum *A. calcoaceticus-baumannii*-Komplex zusammenzufassen [16]. Die anderen Spezies würden sich dann anhand der weiteren in den Tabellen 1 und 2 aufgeführten Assimilationsreaktionen unterscheiden lassen.

### Die klinische Bedeutung von *Acinetobacter*-Arten unter Berücksichtigung der neueren Klassifikation

*Acinetobacter* spp. kommen ubiquitär in der Natur vor. Fast in jeder Wasserprobe sind sie vorhanden. Sie konnten in der Tierwelt nachgewiesen werden und wurden auch aus menschlicher Nahrung isoliert [17,18].

Im Krankenhausmilieu wird *Acinetobacter* vorwiegend in den Feuchtraumreservoirs [18] isoliert, wie z. B. Klimaanlage, Badewannen, und Ventilatoranlagen, in denen Aerosole gebildet werden. Aber auch beim gesunden Menschen kann *Acinetobacter* Teil der normalen Hautflora sein, so wurde die Gattung aus der Axilla und von Zehenzwischenräumen gesunder Personen isoliert [19]. Auch in dem Rachenraum und dem Atemtrakt gesunder Personen finden sich gelegentlich *Acinetobacter* spp. [20]. Der Mensch, vor allem die menschliche Haut – sowohl die Haut der Patienten, als auch die des Personals – ist damit neben Feuchtwasserbehältern wahrscheinliche Quelle für Krankenhausinfektionen.

*Acinetobacter* spp. besitzen eine Polysaccharidkapsel aus L-Rhamnose und D-Glucose als Virulenzfaktor [21]. LPS als toxische Komponente kann über die Zytokinkaskade zum lebensbedrohlichen septischen Krankheitsbild führen. Seifert et al. [22] untersuchten 1994 Bakteriämien durch *Acinetobacter*-Spezies, die nicht in die Spezies *baumannii* gehörten, und isolierten überwiegend *A. johnsonii*, *A. genospezies 3* und *A. lwoffii sensu stricto*. Die untersuchten Bakteriämien waren überwiegend benigne und nicht tödlich. Dies kann zu der Vermutung führen, daß Infektionen mit einigen *Acinetobacter* spp., die nicht in die Spezies *Acinetobacter baumannii* gehören, nicht tödlich verlaufen [22], jedoch können sie den Verlauf von Grundkrankungen wesentlich komplizieren.

Patienten mit schweren und konsumierenden Erkrankungen wie Tumoren, Verbrennungen, Immunsuppression und großen Operationen, vorwiegend bei älteren Patienten, erkranken häufiger an *Acinetobacter*-Infektionen. *Acinetobacter baumannii* wird bei diesen Infektionen am häufigsten isoliert ([12, 23, 24], Tabelle 3). Katheter, sowie weitere künstliche (Plastik)-Anschlüsse können die Eintrittspforte der Infektionserreger sein.

Meistens findet die Infektion auf Intensivstationen, Transplantationsstationen und Verbrennungseinheiten mit ohnehin kleinem aber hochresistentem Erregerspektrum statt.

**Tabelle 3.** Isolierung der *Acinetobacter*-Spezies aus verschiedenen klinischen Untersuchungsmaterialien nach Seifert et al. 1993 [24]. *Acinetobacter calcoaceticus sensu stricto* wurde nicht isoliert. Häufigste Spezies war *A. baumannii*. Von den anderen Spezies wurden in absteigender Häufigkeit identifiziert: *A. genospezies 3*, *A. johnsonii*, *A. lwoffii sensu stricto*, *A. junii*, *A. haemolyticus*, *A. genospezies 10*, *A. genospezies 11*, *A. genospezies 12*, *A. genospezies 6*.

Material	Acinetobacter-Spezies/Genospezies											
	1	2	3	4	5	6	7	8/9	10	11	12	
Blutkulturen	–	66	12	1	4	1	15	11	3	–	–	
Zentralvenenkatheter	–	47	12	–	3	–	4	1	3	–	2	
Liquor	–	1	2	–	–	–	–	1	–	–	–	
Trachealsekret	–	208	6	–	–	–	–	2	–	1	–	
Sputum	–	5	4	2	1	–	3	–	1	1	–	
Wundabstrich	–	70	10	2	–	–	2	2	1	1	–	
Urin	–	10	2	1	–	–	1	3	1	1	–	
Ohrabstrich	–	2	2	1	1	–	–	–	–	–	–	
Augenabstrich	–	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	
Rachenabstrich	–	8	–	–	1	–	2	1	–	–	–	
Übrige	–	8	4	2	1	–	2	–	–	–	–	

Da die massive und breite Antibiotikagabe die übrige Flora supprimiert, wird die Selektion vorwiegend multi-resistenter Acinetobacter-Stämme gefördert. Vor allem *A. baumannii* zeigt eine Multiresistenz gegen Aminoglycoside, Aminopenicilline, Acylureidopenicilline und Cephalosporine der ersten, zweiten und teilweise sogar dritten Generation [25, 26, 27], während die anderen Spezies etwas empfindlicher sind ([23], Tabelle 4).

Acinetobacter-Spezies wurden bei vielen nosokomialen Infektionen wie z. B. Sepsis, Pneumonie, Meningitis, Endokarditis, Haut- und Wundinfektionen und Harnwegsinfektionen isoliert [29, 30]. Das Vorkommen in der Normalflora des Menschen stellt diese Keime in die Gruppe der opportunistischen Erreger. Die Schwere der Erkrankung erfordert eine gezielte Diagnostik und die dadurch mögliche Therapie. Da sich Acinetobacter-Spezies in der Resistenz unterscheiden [23, 24] und wahrscheinlich auch in der Pathogenität [22], sollte auf Grund der sich hieraus ergebenden klinischen Konsequenzen die richtige Speziesdiagnose angestrebt werden.

### Identifizierung mit miniaturisierten Systemen

Schwierigkeiten bestehen bei der Speziesdiagnose mit Hilfe von kommerziellen Identifizierungssystemen, da sich einige noch auf den taxonomischen Stand der Approved Lists of Bacterial Names [31] von 1980 beziehen, während andere sich auf die Taxonomie von Bouvet und Grimont stützen, die Typspezies *calcoaceticus* aber hinausfallen ließen.

Die Gattungsdiagnose kann mit allen Systemen gestellt werden.

Im Vitek-System (bioMérieux Vitek Inc., 595 Anglum Drive, Hazelwood, USA) sind die zwei Varietäten *anitratus* und *lwoffii* gelistet, wobei die Identifizierung von

*A. calcoaceticus* varietas *lwoffii* durch die GNI-Karte als präsumtiv zu bewerten ist, da sie hauptsächlich auf negativen Reaktionen in der Karte basiert. Damit müssen allein schon hier Zusatzreaktionen durchgeführt werden.

In der Datenbasis des Nonfermenter Schnellidentifizierungssystems Rapid NF (Labor Diagnostika, Industriestr. 12, 46359 Heiden) sind ebenfalls nur die Varietäten *anitratus* und *lwoffii* enthalten [32].

Ähnlich einzuschätzen ist nach Robinson et al. [33] das Crystal Enteric/Nonfermenter System der Fa. Becton Dickinson (Cockeysville, Md., USA), da es nur die Differenzierung von *A. baumannii* und *A. lwoffii* erlaubt.

Das derzeit für das Routinelabor als bestes anerkannte Mikroidentifizierungssystem für Nonfermenter, das API 20 NE von bioMérieux (bioMérieux, 69280 Marcy-l'Etoile, France) differenziert bis auf die Typspezies *A. calcoaceticus* alle Nomenspezies. Da sich *A. baumannii* und *A. calcoaceticus* sensu stricto nur durch das Wachstum bei 41° C und 44° C unterscheiden, kann man mit dieser einfachen Methode weiter differenzieren. Jedoch würden bei Wegfall der Typspezies *A. calcoaceticus* Verwechslungen zwischen der alten Nomenklatur (*A. calcoaceticus* varietät *anitratus*) und der neuen (*A. calcoaceticus* sensu stricto) vermieden. Dies wird vor allem bei statistischen Aussagen über die Häufigkeit der verschiedenen Spezies relevant.

Nach einem kürzlich veröffentlichten Bericht von Bernards et al. 1995 [34] ist das Biolog System (Biolog Inc., Hayward, CA, USA), welches die Verwertung von 95 verschiedenen C-Quellen prüft, nicht imstande die spezies-konformen DNA-Gruppen 1 (*A. calcoaceticus*) und 2 (*A. baumannii*) verlässlich zu trennen und korrekt zu identifizieren. Nur 84,5 % der Stämme lassen sich auf dem Genuisniveau zutreffend identifizieren.

Einigkeit herrscht in der neuesten Literatur darüber, daß Acinetobacter-Identifizierungen ohne DNA-Homo-

**Tabelle 4.** Prozentzahlen der von Seifert et al. 1993 [27] aus Blutkulturen, Zentralvenenkathetern und Liquores isolierten Acinetobacter-Spezies, die nach den für die einzelnen Antibiotika von NCCLS vorgegebenen MHK-Werten gut empfindlich waren. *A. baumannii* wurde nach Bouvet und Grimont 1987 [28] noch in Biotypen unterteilt.

Spezies	Anzahl getestete Antibiotika																
	n	AMP	MZ	PIP	AUG	CFZ	FOX	CRM	CFT	CAZ	CAX	AZT	IPM	AMK	GM	TOB	CP
<i>A. baumannii</i> Biotyp 9	95	9	63	64	91	0	0	1	68	68	68	46	100	36	2	2	6
<i>A. baumannii</i> Biotyp 6	13	8	69	77	92	0	0	0	85	85	85	46	100	85	77	92	92
<i>A. haemolyticus</i>	3	67	33	100	100	0	0	67	100	100	100	100	100	67	100	33	100
<i>A. johnsonii</i>	16	94	38	63	100	0	13	44	69	81	81	81	100	100	94	94	94
<i>A. junii</i>	6	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100	83	100	100	100
<i>A. lwoffii</i>	15	100	80	87	100	7	40	67	93	93	93	60	100	100	100	100	100
<i>A. genospecies</i> 3	17	18	29	71	100	0	0	0	59	100	88	12	100	94	88	88	94
<i>A. genospecies</i> 6	2	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>A. genospecies</i> 10	5	0	40	60	60	0	0	0	100	100	100	0	100	60	20	40	100
<i>A. genospecies</i> 12	3	100	100	100	100	0	67	100	100	100	100	67	100	100	100	100	100
nicht bestimmte Genospezies	5	80	80	80	80	0	40	80	100	100	100	80	80	80	80	80	100

AMP: Ampicillin, MZ: Mezlocillin, PIP: Piperacillin, AUG: Amoxicillin und Clavulansäure, CFZ: Cefazolin, FOX: Cefoxitin, CRM: Cefuroxim, CFT: Cefotaxim, CAZ: Ceftazidim, CAX: Ceftriaxon, AZT: Aztreonam, IPM: Imipenem, AMK: Amikacin, GM: Gentamicin, TOB: Tobramycin, CP: Ciprofloxacin.

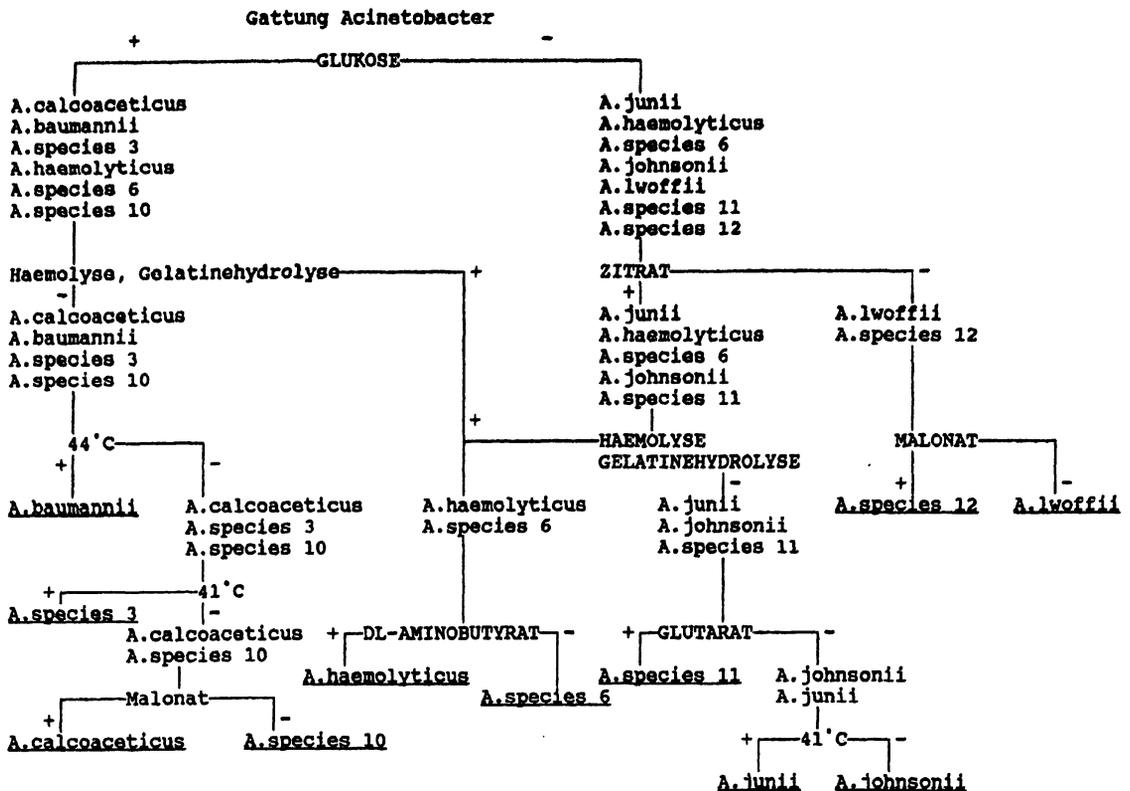


Abb. 1. Differenzierung von Acinetobacter-Spezies mit Hilfe von Schlüsselreaktionen.

logie-Analysen, d. h. mit phänotypischen Merkmalen, lediglich als präsumtiv gelten dürfen [35, 36].

### Möglichkeiten des Vorgehens in der Laboratoriumspraxis

Eine Differenzierung der Acinetobacter-Spezies zumindest in die sechs Nomenespezies – möglichst aber in die von Bouvet und Grimont 1986 beschriebenen Nomen- und Genospezies – sollte im Routinelabor angestrebt werden.

Nach unserer Erfahrung hat sich dabei das API 20 NE bewährt. Zusätzlich sind bei Bedarf nur Wachstumskontrollen bei 41°C und 44°C durchzuführen – sowie gegebenenfalls die Verwertung von DL-Aminobutyrat, Glutarat und Malonat zu prüfen. Bei der Plausibilitätskontrolle der systembegleitenden Auswertungs-Software hat sich im Labor des Verfassers in der ermittelten Speziesidentifizierung das in Abbildung 1 wiedergegebene Dichotomie-Schema bewährt.

### Literatur

1. Schaub IG, Hauber FD (1948) A biochemical and serological study of a group of identical unidentifiable gram-negative bacilli from human sources. *J Bacteriol* 56, 379–385
2. De Bord GG (1942) Descriptions of *Mimae* Trib. nov. with three genera and three species and two new species of *Neisseria* from conjunctivitis and vaginitis. *Iowa State College J. Sci.* 16, 471–480
3. Aududerau A (1940) Etude du genre *Moraxella*. *Ann Inst Pasteur* 64, 126–166
4. Mannheim W, Stenzel W (1962) Zur Systematik der obligat aeroben gramnegativen Diplobakterien des Menschen. *Zentralbl Bakteriol Parasitenk Infektionskr Hyg Abt I* 188, 55–83
5. Lemoigne M, Girard H, Jacobelli G (1952) Bactérie du sol utilisant facilement le 2–3 butanediol. *Ann Inst Pasteur* 82, 389–398
6. Beijerinck MW (1911) Über die Pigmentbildung bei Essigbakterien. *Zentralbl Bakteriol Parasitenk Infektionskr Hyg Abt II* 29, 169–176
7. Brisou J, Prévot A R (1954) Étude de systématique bactérienne. X. Revision des espèces réunies dans le genre *Achromobacter*. *Ann Inst Pasteur* 86, 722–728
8. Bergey DH, Harrison FC, Breed RS, Hammer BW, Huntton FM (1923) *Bergey's Manual of Determinative*

- Bacteriology. 1st ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore pp 1–442
9. Baumann P, Doudoroff M, Stanier RY (1968) A study of the *Moraxella* group II. Oxidative-negative species (Genus *Acinetobacter*). *J Bacteriol* 95, 1520–1541
  10. Bovre K, Henriksen SD (1976) Minimal standards for description of new taxa within the genera *Moraxella* and *Acinetobacter*: proposal by the subcommittee on *Moraxella* and allied bacteria. *Int J Syst Bacteriol* 26, 92–96
  11. Juni E (1954) Genus III *Acinetobacter* Brisou and Prevot In: *Bergey's Manual of systematic bacteriology* 5th ed. (Krieg NR, Hold JG ed.). The Williams & Wilkins Co., Baltimore, p 303–307
  12. Bouvet PJM, Grimont PAD (1986) Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov., and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int J Syst Bacteriol* 36, 228–240
  13. Nishimura Y, Ino T, Iizuka H (1988) *Acinetobacter radioresistens* sp. nov. isolated from cotton and soil. *Int J Syst Bacteriol* 38, 209–211
  14. Tjernberg I, Ursing J (1989) Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridisation. *APMIS* 97, 595–605
  15. Bouvet PJM, Jeanjean S (1989) Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res Microbiol* 140, 291–299
  16. Gerner-Smidt P, Tjernberg I, Ursing J (1991) Reliability of phenotypic test for identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol* 29, 277–282
  17. Baumann A (1968) Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. *J Bacteriol* 96, 39–42
  18. Bergogne-Bérézin E, Joly-Guillou ML, Vien JF (1987) Epidemiology of nosocomial infections due to *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Hosp Infect* 10, 105–113
  19. Noble WC, Hope YM, Midgley G, Moore MK, Patel S, Virani Z, Lison E (1986) Toeweb as a source of gram-negative bacilli. *J Hosp Infect* 8, 248–256
  20. Glew RH, Moellering RC, Kunz LJ (1977) Infections with *Acinetobacter calcoaceticus* (*Herellea vaginicola*). Clinical and laboratory studies. *Medicine* 56, 79–87
  21. Juni E. 1978. Genetics and physiology of *Acinetobacter*. *Annual Rev Microbiol* 21, 423–433
  22. Seifert H, Strate A, Schulze A, Pulverer G (1994) Bacteremia due to *Acinetobacter* species other than *Acinetobacter baumannii*. *Infection* 22, 379–385
  23. Postulka A (1994) Epidemiologie und Resistenzmuster von *Acinetobacter*-Spezies unter Berücksichtigung der neuen Nomenklatur. *Immun Infekt* 22, 142–145
  24. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G (1993) The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zbl Bakt* 279, 544–552
  25. Devaud M F, Kayser F H, Bachi B (1982) Transposon-mediated multiple antibiotic resistance in *Acinetobacter* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 22, 323–329
  26. Bergogne-Bérézin E, Joly-Guillou ML (1986) Comparative activity of imipenem, ceftazidime and cefotaxime against *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 18, 35–39
  27. Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G (1993) Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 37, 750–753
  28. Bouvet PJ, Grimont PA (1987) Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 138, 569–578
  29. Wise KA, Tosolini FA (1990) Epidemiological surveillance of *Acinetobacter* species. *J Hosp Infect* 16, 319–329
  30. Bergogne-Bérézin E (1994) *Acinetobacter* spp., saprophytic organisms of increasing pathogenic importance. *Zbl Bakt* 281, 389–392
  31. Skerman V B D, Mc Gowan V, Sneath P H A (1980) Approved lists of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol* 30, 225–420
  32. Kitch TT, Jacobs MR, Appelbaum PC (1992) Evaluation of the 4-hour RapID NF Plus method for identification of 345 gram-negative nonfermentative rods. *J Clin Microbiol* 30, 1267–1270
  33. Robinson A, McCarter YS, Tetreault J (1995) Comparison of Crystal Enteric/Nonfermenter system, API 20 E system, and Vitek Automicrobic system for identification of gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 33, 364–370
  34. Bernards AT, Dijkshoorn L, Van der Toorn J, Bochner BR, Van Boven CPA (1995) Phenotypic characterisation of *Acinetobacter* strains of 13 DNA-DNA hybridisation groups by means of the Biolog system. *J Med Microbiol* 42, 113–119
  35. Actis LA, Weaver RE (1994) Identification of *Acinetobacter* species. *J Clin Microbiol* 32, 1833
  36. Horrevorts A, Bergman K, Kollée L, Breuker I, Tjernberg I, Dijkshoorn L (1995) Clinical and epidemiological investigations of *Acinetobacter* genomospecies 3 in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 33, 1567–1572

## Arbeitsgruppe der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin „Standardisierung von Immunoassays – Schwerpunkt Herzdiagnostik“

Die Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin hat in 1994 beschlossen, die Arbeitsgruppe „Standardisierung von Immunoassays“ zu etablieren. Mit dem Vorsitz dieser Arbeitsgruppe wurde *Dr. F. Dati* beauftragt.

Das Ziel dieser Arbeitsgruppe ist die Fortführung internationaler Standardisierungsaktivitäten auf dem Gebiet der Immunoassays sowie deren Umsetzung auf nationaler Ebene in den Fachgesellschaften. Der Schwerpunkt liegt in der Labor-diagnostik ischämischer Herzerkrankungen. In diesem Zusammenhang werden zwei Zielrichtungen angestrebt:

1. Vereinheitlichung/Standardisierung von Immunoassays zur Bestimmung von biochemischen Herzmarkern („Cardiac Markers“), insbesondere CK-MB (Massenkonzentration), Myoglobin, Troponin I und Troponin T
2. Erarbeitung labordiagnostischer Strategien bezüglich effektiver Anwendung der biochemischen Herzmarker im Rahmen der Diagnostik und Therapie von Herzerkrankungen in Zusammenarbeit mit der Klinik. Diese „diagnostischen Strategien“ sollen den Klinikern eine Hilfestellung bei ihren Entscheidungen geben.

Damit die Umsetzung der Ziele der Arbeitsgruppe auf einer möglichst breiten Basis erfolgen kann, sind neben der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin auch die Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie, die Österreichische Gesellschaft für Klinische Chemie, die Deutsche Gesellschaft für internistische Intensivmedizin und die Deutsche Gesellschaft für Kardiologie, Herz- und Kreislaufforschung mit eigenen Mitgliedern in der Arbeitsgruppe vertreten. Die Arbeitsgruppe hat zur Zeit acht Mitglieder: *Dr. Francesco Dati*/Marburg (Vorsitzender), *Prof. Dr. Stefan Hohnloser*/Frankfurt, *Doz. Dr. habil. Walter Hubl*/Dresden, *Prof. Dr. Dr. Norbert Katz*/Gießen, *Dr. Maren Messinger*/Frankfurt, *Prof. Dr. Bernd Puschendorf*/Innsbruck, *Prof. Dr. Dr. Wolfgang Stein*/Hamburg und *PD Dr. Thomas Störk*/Stuttgart.

Eine erweiterte Gruppe mit „Assoziierten Mitgliedern“ wurde inzwischen etabliert. In dieser erweiterten Gruppe operieren neben den genannten Gruppenmitgliedern auch Vertreter von Diagnostika-Firmen, die auf dem Gebiet der Labor-diagnostik von Herzerkrankungen tätig sind, nämlich Abbott, Bayer, Behringwerke, Boehringer Mannheim, Ciba Corning, Dade, Hoffmann-La Roche, Instrumentation Laboratory, Kone, Merck, Olympus, Sanofi Pasteur und Spectral Diagnostics.

### Sektionen der Arbeitsgruppe

I. Die erste Sektion wird sich mit der Analytik von biochemischen Herzmarkern (insbesondere CK-MB Masse, Myoglobin, Troponin I und T) befassen.

Innerhalb dieser Sektion sollen für die bereits kommerziell erhältlichen analytischen Methoden für die Herzmarker Empfehlungen bezüglich der Methodenstandardisierung erarbeitet und, falls nötig, geeignete Referenzmaterialien hergestellt und kalibriert werden. Weiterhin sollen Referenz- bzw. Konsensmethoden zur Kalibrierung von Referenzmaterialien für Herzmarker vorgeschlagen und etabliert werden.

Falls diese Referenzmaterialien bereits existieren, sollen diese durch gezielte Aktionen der Arbeitsgruppe in Deutschland bzw. in Europa geprüft und übernommen werden. Deswegen hat die Gruppe eine Zusammenarbeit mit der American Association for Clinical Chemistry (AACC) begonnen, die in-

**Tabelle 1. Arbeitsgruppe der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin „Standardisierung von Immunoassays – Schwerpunkt Herzdiagnostik“.**

#### Vertretene Gesellschaften

Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin (DGLM)  
Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC)  
Österreichische Gesellschaft für Klinische Chemie (ÖGKC)  
Deutsche Gesellschaft für Kardiologie-, Herz- und Kreislaufforschung  
Deutsche Gesellschaft für internistische Intensivmedizin

#### Assoziierte Gesellschaften

American Association of Clinical Chemistry (AACC)

#### Mitglieder

*Dr. Francesco Dati*, Marburg (Vorsitzender)  
*Prof. Dr. Stefan Hohnloser*, Frankfurt  
*Doz. Dr. habil. Walter Hubl*, Dresden  
*Prof. Dr. Dr. Norbert Katz*, Gießen  
*Fr. Dr. Maren Messinger*, Frankfurt  
*Prof. Dr. Bernd Puschendorf*, Innsbruck/Österreich  
*Prof. Dr. Dr. Wolfgang Stein*, Hamburg  
*Priv. Doz. Dr. Thomas Störk*, Stuttgart

#### Assoziierte Mitglieder

Abbott, Bayer, Behringwerke, Boehringer Mannheim, Ciba Corning, Dade, Hoffmann-La Roche, Instrumentation Laboratory, Kone Instruments, Merck, Olympus, Sanofi Pasteur, Spectral Diagnostics

nerhalb eines eigenen Komitees die Herstellung eines Referenzmaterials für CK-MB (Masse) initiiert hat.

Ein weiteres Arbeitsgebiet dieser Sektion wird die Analyse von präanalytischen und technischen Aspekten bezüglich Optimierung der Bedingungen für die Blutentnahme und Probenvorbereitung sein. Dadurch soll eine Verbesserung der Logistik in Hinblick auf eine schnelle Verfügbarkeit zuverlässiger Ergebnisse der Laborparameter für die Herzdiagnostik erreicht werden.

II. Die zweite Sektion der Arbeitsgruppe wird sich mit der Erarbeitung von labordiagnostischen Strategien für Diagnose und Therapie ischämischer Herzerkrankungen beschäftigen.

In diesem Kontext sind folgende Aktivitäten vorgesehen:

- Festlegung von Entscheidungskriterien/Interventionsgrenzen für die Interpretation der biochemischen Herzmarker und deren Anwendung in der Diagnostik und Therapie
- Erarbeitung von Empfehlungen für einen effektiven Einsatz der biochemischen Herzmarker bei Diagnose, Bestätigung und Ausschluß einer ischämischen Herzerkrankung (insbesondere akuter Herzinfarkt – AMI – bzw. instabile Angina pectoris) sowie bei der Beurteilung der Reperfusion nach Thrombolyse eines AMI
- Einbeziehung von neuen, bisher nicht etablierten Herzmarkern sowie auch von Entzündungs- und Gerinnungsparametern in die diagnostischen Strategien.

Ein Positionspapier „Empfehlungen für die Laboratoriumsdiagnostik bei akuten Koronarsyndromen“ ist bereits erarbeitet und befindet sich im Prozeß der Verabschiedung durch die verschiedenen Fachgesellschaften.

*Dr. F. Dati*

## Coulter® MD II und Coulter® MicroDiff II

### Coulter-MD II-Serie – einfach, schnell: kleines oder großes Blutbild aus 12 µl Blut

Aus nur 12 µl Vollblut und in weniger als 60 Sek. erstellt der Coulter® MD II ein kleines Blutbild mit 8 Parametern und der Coulter® MicroDiff II ein großes Blutbild mit der Coulter-Histogrammdifferenzierung mit insgesamt 18 Parametern; hinzu kommen die entsprechenden Verteilungskurven der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten.

Zudem ist die Bedienung einfach und durch Symbole auf den wenigen Bedienungstasten schnell zu erlernen.

Spezielle Absicherungen der Meßergebnisse sind seit Jahren bei allen Coulter-Hämatologieanalysatoren Standard; dazu gehören z. B. Dreifachzählung, Hinterkapillarspülung (Sweep flow), artefaktfreie Zellvolumenbestimmung durch Zellimpulssortierung (Pulse editing), Zählzeitverlängerung bei zytopenischem Blut.

Erhöhte Sicherheit gibt die neue, zum Patent angemeldete, selbstreinigende Probenadel. Der Ergebnisausdruck ist variabel, und bietet dem Benutzer individuelle

Gestaltungsmöglichkeiten. Er kann zum Beispiel wahlweise mit den Histogrammen oder mit einem Feld zum Eintrag mikroskopischer Differenzierungsergebnisse erstellt werden.

Auch die Qualitätskontrolle ist denkbar einfach: Per Diskette werden die Sollwerte des Kontrollblutes der 3 Bereiche (normal, abnormal hoch, abnormal niedrig) schnell und fehlerfrei übertragen und die Meßergebnisse automatisch gespeichert. Selbstverständlich erhält man von den Messungen eine grafische und tabellarische Darstellung der Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten.

Routinewartungen sind nicht mehr nötig. Das System arbeitet mit integriertem Kompressor.

Durch ein abgestimmtes Reagenziensystem: Micro-Pak mit der neuen konzentrierten Reinigungslösung Coulter® Clenz kann kostengünstig gearbeitet werden.

Auch überall dort, wo man mit besonders wenig Probenvolumen auskommen muß, wie z. B. in der Pädiatrie, Geriatrie, den Intensivstationen, Notfallambulanz, OPs sind die Analysatoren der Coulter MD II-Serie ideal, zuverlässig und präzise. Zusätzlich kommen sie als Back-up-Systeme in Großlaboratorien in Frage.

## Der Spezialist für Autoimmunerkrankungen

### Diese Tests kennen Sie bereits:

- ACHRAB®-Assay
- PR3 (C-ANCA) ELISA
- MPO (P-ANCA) ELISA
- dsDNA ELISA
- Tg ELISA
- TPO ELISA

### Neu im Programm!

#### • BPI-Antikörper (IgA/IgG) ELISA

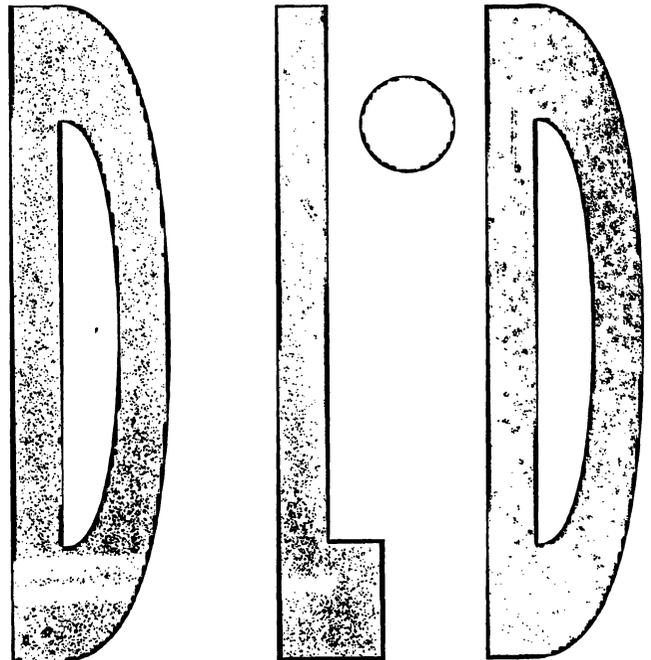
zur Abklärung IFT-positiver, anti-PR3- und anti-MPO-negativer Befunde, speziell bei zystischer Fibrose, Autoimmun-Hepatitis und entzündlichen Darmerkrankungen, z. B. Colitis ulcerosa.

#### • GBM-Antikörper ELISA

für den spezifischen Nachweis eines Goodpasture Syndroms unter Einsatz der NC1-Domäne der  $\alpha 3$ -Kette des Typ-IV-Kollagens als Zielantigen.

#### • Gliadin-Antikörper (IgA/IgG) ELISA

für die Diagnose bzw. Ausschluss-Diagnose einer Zöliakie und bei Dermatitis herpetiformis. FDA (510k) zugelassen.



# DIAGNOSTIKA GMBH

DLD GESELLSCHAFT FÜR DIAGNOSTIKA UND MEDIZINISCHE GERÄTE MBH • ADLERHORST 15 • D-22459 HAMBURG • TEL. 040 / 555 87 10 • FAX 040 / 555 87 111

Lab. med. 19: (1995)