

Evaluación del sistema API Coryne, versión 2.0, para la identificación de bacilos gram-positivos difteroides de importancia clínica

M. N. ALMUZARA*, C. DE MIER, C. R. RODRÍGUEZ, A. M. R. FAMIGLIETTI, C. A. VAY

Laboratorio de Bacteriología, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas "José de San Martín",
Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.
Avenida Córdoba 2351 (1120) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
*Correspondencia. E mail: marisaalmuzara@arnet.com.ar

RESUMEN

Se evaluó la capacidad del sistema API Coryne, versión 2.0, (bioMérieux) para identificar 178 cepas de bacilos gram-positivos: 78 del género *Corynebacterium* y 100 de géneros relacionados, aislados de muestras clínicas de pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas José de San Martín (UBA) en el período 1995-2004. Los aislamientos fueron identificados de acuerdo al esquema de von Graevenitz y Funke. Sobre un total de 178 cepas, 162 (91%) fueron correctamente identificadas a nivel de género y especie ($IC_{95} = 85,6-94,6$), 44 de ellas (24,7%) requirieron el uso de pruebas adicionales para la identificación definitiva. En 16 cepas (9%) no se llegó a la identificación correcta ($IC_{95} = 5,4-14,4$) y no hubo cepas no identificadas. API Coryne versión 2.0 es un sistema útil para la identificación de la mayoría de las especies de *Corynebacterium* de importancia clínica: *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Corynebacterium amycolatum* y de las especies relacionadas *Arcanobacterium haemolyticum*, *Dermabacter hominis*, *Listeria monocytogenes*, entre otros. No obstante para bacilos gram-positivos difteroides que presentan pigmento amarillo (*Aureobacterium* spp., *Leifsonia aquatica*, *Microbacterium* spp. y *Cellulomonas* spp.) y para bacilos gram-positivos ácido resistentes (*Rhodococcus*, *Gordonia*, *Tsukamurella* y *Nocardia*), la utilidad en la identificación del género es limitada.

Palabras clave: bacilos gram-positivos, API Coryne (versión 2.0), identificación bacteriana

ABSTRACT

Evaluation of API Coryne system, version 2.0, for diptheroid gram-positive rods identification with clinical relevance. The ability of the API Coryne system, version 2.0, to identify 178 strains of gram-positive rods was evaluated. Seventy eight isolates belonged to genus *Corynebacterium* and one hundred to related genera, all strains were isolated from clinical samples at the Laboratory of Bacteriology, Hospital de Clínicas José de San Martín (UBA) between 1995 and 2004. The isolates were identified according to von Graevenitz and Funke's scheme. One hundred and sixty two out of 178 strains (91%) were correctly identified at genus and species level ($IC_{95} = 85.6-94.6$), in 44 of them (24.7%) additional tests were needed to final identification. Sixteen strains (9%) were not correctly identified ($IC_{95} = 5.4-14.4$); none of the 178 strains remained unidentified. The API Coryne system, version 2.0, is useful to identify the majority of *Corynebacterium* species with clinical relevance: *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Corynebacterium amycolatum* and related species such as *Arcanobacterium haemolyticum*, *Dermabacter hominis*, *Listeria monocytogenes*, among others. Nevertheless for yellow-pigmented diptheroid gram-positive rods (*Aureobacterium* spp., *Leifsonia aquatica*, *Microbacterium* spp. and *Cellulomonas* spp.) and for acid fast gram-positive rods (*Rhodococcus*, *Gordonia*, *Tsukamurella* and *Nocardia*) the identification usefulness the system is limited.

Key words: gram-positive rods, API Coryne (version 2.0), bacterial identification

Con excepción de las especies del grupo "*Corynebacterium diphtheriae*", los bacilos gram-positivos difteroides son bacterias oportunistas que pueden ocasionar infecciones preferentemente en pacientes inmunocomprometidos o con enfermedades predisponentes (1). Durante los últimos años el número de casos publicados en los que se los asocia con enfermedad infecciosa se ha incrementado notoriamente (9).

La identificación de las bacterias corineformes es uno de los mayores desafíos que enfrenta el laborato-

rio de bacteriología clínica. Esto es debido principalmente a la enorme diversidad de estos microorganismos y al número relativamente pequeño de pruebas bioquímicas convencionales disponibles para su diferenciación. Sin embargo, un esfuerzo se debería realizar en este sentido cuando el microorganismo se halla en un cultivo puro del espécimen clínico o predomina en una muestra proveniente de una cavidad cerrada. No obstante, la identificación mediante la metodología convencional es a menudo dificultosa y requie-

re de varios días para determinar correctamente el género y/o la especie.

API Coryne, versión 2.0, es un sistema manual capaz de identificar en 24 horas a 49 especies de bacterias corineformes encontradas habitualmente en clínica. Contiene 20 pruebas, 11 enzimáticas y 8 de utilización de hidratos de carbono, con su correspondiente control.

El objetivo de este trabajo fue comparar la habilidad del sistema API Coryne, versión 2.0, para la identificación de bacilos gram-positivos difteroides con respecto a la metodología convencional, la que fue considerada como método de referencia.

Se estudiaron un total de 178 bacilos gram-positivos difteroides provenientes de aislamientos clínicos de diferentes materiales biológicos de pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas "José de San Martín" en el período comprendido entre enero de 1995 y julio de 2004.

Todas las cepas fueron conservadas en leche descremada a -70°C hasta el momento de su estudio, y subcultivadas en agar base Columbia con 5% de sangre a 35°C en atmósfera ambiente durante 18 a 24 horas antes de ser inoculadas en el sistema, excepto en el caso de las especies lipofílicas de *Corynebacterium* que fueron subcultivadas en agar base Columbia con 5% de sangre y 0,1-1% de Tween 80.

Los microorganismos fueron identificados a nivel de género y especie mediante el uso de pruebas convencionales de acuerdo a la metodología previamente descrita por von Graevenitz y Funke (15), la cual fue considerada método de referencia. Se trató de un estudio comparativo no ciego entre un método miniaturizado (API Coryne, versión 2.0) y un método de referencia (pruebas bioquímicas convencionales).

Las galerías de API Coryne (bioMérieux, Marcy L'Étoile, France) fueron inoculadas e interpretadas de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Los biocódigos fueron ingresados en la base de datos APILAB versión 2.0.

Los primeros 11 pocillos (reducción del nitrato, pirazinamidasa, pirrolidonil arilamidasa, fosfatasa alcalina, β -glucuronidasa, β -galactosidasa, α -glucosidasa, N-acetil β -glucosaminidasa, hidrólisis de la esculina, ureasa, hidrólisis de gelatina) fueron inoculados con una suspensión bacteriana equivalente al tubo N° 6 de la escala de Mc Farland. Se llenó el tubo y la cúpula con la suspensión. El pocillo correspondiente a la prueba de ureasa se llenó con aceite de parafina estéril. Los últimos 9 pocillos (control de fermentación de hidratos de carbono, fermentación de: glucosa, ribosa, xilosa, manitol, maltosa, lactosa, sacarosa, y glucógeno), con la mezcla resultante de la adición de 0,5 ml de la suspensión del microorganismo equivalente al tubo N° 6 de la escala de Mc Farland en un medio enriquecido que contenía un indicador de pH (GP medium). Las cúpulas se llenaron con aceite de parafina estéril.

Cada galería fue incubada en cámara húmeda a $35-37^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. La reacción de catalasa (prueba 21 de la galería) se realizó añadiendo una gota de agua oxigenada al 3% en la prueba de esculina o gelatina. La aparición de burbujas se interpretó como prueba positiva. El pocillo de nitratos fue revelado por adición de los reactivos 1 (ácido sulfanílico-ácido acético) y 2 (N,N-dimetil-1-naftilamina). Los pocillos con enzimas (pirazinamidasa, pirrolidonil arilamidasa, fosfatasa alcalina, β -glucuronidasa, β -galactosidasa, α -glucosidasa, N-acetil β -glucosaminidasa) fueron revelados con 1 gota del reactivo ZYM A (Tris-hidroxitometil-aminometano y lauril sulfato de sodio) y una gota de ZYM B (Fast Blue BB) y leídas luego de 10 minutos.

La lectura de las reacciones se llevó a cabo utilizando la guía del fabricante y se codificó el conjunto de los resultados obtenidos en un perfil numérico (biocódigo) el cual fue leído en un programa computarizado (versión 2.0).

Se consideró "identificación correcta" cuando el sistema indicó que el biocódigo obtenido correspondía a una identificación excelente, muy buena o buena, y coincidió con la identificación por el método patrón. La expresión "baja discriminación" fue aceptada como correcta, cuando el microorganismo pudo ser identificado mediante el uso de pruebas adicionales sugeridas por el fabricante. Se consideró "identificación incorrecta" cuando el biocódigo correspondió a una especie diferente de la identificada por el método patrón.

Se calificó como correcta la identificación de *Corynebacterium xerosis* cuando el sistema indicó *Corynebacterium striatum-Corynebacterium amycolatum* dado que *C. xerosis* no se encuentra en la base de datos de API Coryne, versión 2.0.

Análisis estadístico: se calculó la sensibilidad por fórmula $(VP / VP + FN) \times 100$ y el correspondiente intervalo de confianza del 95% (IC_{95}) con paquete estadístico EPIINFO 6.04 (Atlanta Univ.).

Los resultados de la identificación de 178 cepas de bacilos gram-positivos difteroides por el sistema API Coryne, versión 2.0 se muestran en la Tabla 1.

Sobre un total de 178 cepas, 162 (91%) fueron correctamente identificadas a nivel de género y especie ($IC_{95} = 85,6-94,6$), 44 de ellas (24,7%) requirieron el uso de pruebas adicionales para la identificación definitiva. En 16 cepas (9%) no se llegó a la identificación correcta ($IC_{95} = 5,4-14,4$). Ninguna cepa resultó en la categoría no identificada.

API Coryne identificó el total de los aislamientos de *Corynebacterium urealyticum*, de *Corynebacterium* CDC Grupo F, y de otras especies relacionadas como *Derma-bacter hominis* sin la necesidad de pruebas adicionales. Según los resultados del presente trabajo, y de acuerdo con otros autores (8, 9), el sistema no permite separar *C. striatum* de *C. amycolatum*, ni *Aureobacterium* spp. de

Tabla 1. Resultados de la Identificación bioquímica con el sistema API Coryne, versión 2.0.

Microorganismo	Total	Identificación correcta	Identificación correcta con pruebas adicionales	Identificación incorrecta
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	25	24	1	0
<i>Arthrobacter</i> spp.	11	2	2	7
<i>Aureobacterium</i> spp.	4	1	3	0
<i>Brevibacterium</i> spp.	3	2	1	0
<i>Corynebacterium afermentans</i>	10	0	8	2
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	21	11	10	0
<i>Corynebacterium</i> CDC grupo F	2	2	0	0
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	4	2	0	2
<i>Corynebacterium macginlenyi</i>	3	2	0	1
<i>Corynebacterium propinquum</i>	2	0	2	0
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	12	8	3	1
<i>Corynebacterium striatum</i>	7	7	0	0
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	16	16	0	0
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1	1	0	0
<i>Dermabacter hominis</i>	21	21	0	0
<i>Leifsonia aquatica</i>	3	2	1	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	7	1	0
<i>Microbacterium</i> spp.	8	5	2	1
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	1	0	0
<i>Rhodococcus equi</i>	9	2	7	0
<i>Rhodococcus</i> spp. (excluido <i>R. equi</i>)	6	1	3	2
<i>Rothia dentocariosa</i>	1	1	0	0
TOTAL	178	118 (66,3%)	44 (24,7%)	16 (9%)

Leifsonia aquatica. Según la literatura, tampoco discrimina *Cellulomonas* spp. de *Microbacterium* spp., *Corynebacterium afermentans* de *Corynebacterium coyleae* y *Corynebacterium auris* de *Turicella otitidis* (8, 9). Para alcanzar la identificación definitiva fueron necesarias las pruebas adicionales sugeridas por el fabricante, pero muchas de ellas no se hallan disponibles en el laboratorio clínico. Es por eso que en algunos de estos casos hemos sugerido para tal fin pruebas sencillas alternativas (basadas en la literatura y en nuestra experiencia previa) (Tabla 2).

La asimilación de ácido fenilacético propuesta por API Coryne para separar *C. striatum* de *C. amycolatum* es una prueba que no se encuentra normalmente al alcance de un laboratorio de baja o mediana complejidad, por lo que proponemos separar estas especies utilizando la sensibilidad al compuesto vibriostático O129 (150 µg), la hidrólisis de la tirosina y la prueba de CAMP (9) (Tabla 2). Además, la multiresistencia antibiótica generalmente está asociada con *C. amycolatum* (7, 13).

La mayoría de las cepas de *Corynebacterium afermentans* fueron identificadas con muy baja discriminación puesto que el sistema no puede discriminar entre *C. afermentans* y *Corynebacterium coyleae*. Para ello recu-

rrer a pruebas adicionales: el tipo de metabolismo (fermentativo en *C. coyleae* y oxidativo en *C. afermentans*) y la reacción de CAMP (positiva en *C. coyleae* y variable en *C. afermentans*). No obstante, cabe aclarar que *C. coyleae* es un fermentador lento (6), por lo que es necesario prolongar el tiempo de incubación de los hidratos de carbono para detectar acidez. *C. afermentans* subsp. *lipophilum* no está incluido en la base de datos de API Coryne versión 2.0 pero su perfil numérico (2100004) es el mismo que el de *C. afermentans*; la única diferencia es la lipofilicidad de *C. afermentans* subsp. *lipophilum* (colonias < 0,5 mm de diámetro en agar base Columbia con 5% de sangre ovina a las 24 horas de incubación). El biocódigo obtenido para *C. afermentans* (2100004) coincide con el de *Corynebacterium auris* y *Turicella otitidis*. Para separar estas tres especies, el sistema propone la combinación de tres pruebas: CAMP, asimilación de L-aspartato y de D-manosa. No obstante, la identificación definitiva de estas especies se alcanza en laboratorios de referencia por la utilización de hidratos de carbono (9).

El sistema tampoco separa *Aureobacterium* spp. de *Leifsonia aquatica* y propone la hidrólisis de la caseína como prueba diferencial. Otras dos características: la

Tabla 2. Pruebas sugeridas para identificar pares de microorganismos no discriminados por API Coryne, versión 2.0

Pares de microorganismos categorizados como "baja discriminación"	Pruebas adicionales				
	API Coryne, versión 2.0)	Sugeridas en este trabajo			
	Crecimiento 42°C	NO ³⁻	Acido de xilosa		
<i>Microbacterium</i> spp.	-	V	V		
<i>Cellulomonas</i> spp.	+	+	+		
	Acido de sacarosa	Movilidad	Urea ²	Esculina ²	
<i>Arthrobacter</i> spp.	+	V	V	V	
<i>Brevibacterium</i> spp.	-	-	-	-	
	Asimilación de ácido fenil-acético	Aspecto cultural	O129 ¹ (150 µg)	CAMP	Tirosina ²
<i>C. striatum</i>	+	Colonias cremosas borde entero	Sensible	V	+
<i>C. amycolatum</i>	-	Colonias secas borde irregular	Resistente	-	-
	Caseína ²	Gelatina ²	Tiempo de desarrollo pigmento amarillo		
<i>Aureobacterium</i> spp.	+	+	Rápido		
<i>Leifsonia aquatica</i>	-	-	Lento		

¹ Compuesto vibriostático² Hidrólisis de

hidrólisis de la gelatina y el tiempo de desarrollo de pigmento amarillo pueden utilizarse para diferenciar ambas especies (Tabla 2) (10).

De siete aislamientos de *Microbacterium* spp. identificados como *Microbacterium-Cellulomonas*, dos requirieron de pruebas adicionales. La prueba diferencial que propone el sistema para separar estos dos géneros es el crecimiento a 42 °C. La combinación de algunas pruebas, como la reducción de nitratos y la fermentación de la xilosa (Tabla 2) pueden ser usados para separar estos géneros, según la literatura (3) y sobre la base de nuestra propia experiencia. La mayoría de las especies de *Cellulomonas* expresan actividad de celulasa (5), pero la única especie reconocida en especímenes humanos, *Cellulomonas hominis*, no presenta esta actividad, por lo que la diferenciación entre *C. hominis* y *Microbacterium* spp. sólo se obtiene a través de estudios quimiotáxicos (9).

La mayoría de los aislamientos de *Arthrobacter* (7 de 11) fueron identificados de forma errónea; además, 2 aislamientos requirieron pruebas adicionales para separar *Arthrobacter* de *Brevibacterium*. Las pruebas convencionales no permiten separar fehacientemente ambos géneros, pues comparten varias características fenotípicas: ambos poseen metabolismo oxidativo, presentan ciclo coco-bacilo (morfología corineforme luego de una incubación de 24 horas y principalmente cocoide después de 72 horas) y expresan actividad de DNasa y de gelatinasa (4). La presencia de movilidad, de actividad hidrolítica de urea o de esculina son las únicas características fenotípicas disponibles hasta el momento para descartar el género *Brevibacterium* (Tabla 2). Además, muchas de

las cepas de *Brevibacterium* aisladas de materiales clínicos humanos tienen un olor distintivo a queso o a transpiración humana (2, 9), que no muestran los aislamientos de *Arthrobacter* (4)

Las ocho cepas de *Listeria monocytogenes* fueron identificadas correctamente como *L. monocytogenes-Listeria innocua*. La presencia de beta hemólisis y la reacción de CAMP con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pruebas sugeridas por el fabricante, son complementarias para diferenciar estas especies (*L. monocytogenes*: ambas pruebas positivas y *L. innocua*: ambas pruebas negativas) y, por ende, no pueden incluirse en el sistema.

La mayoría de las cepas del género *Rhodococcus* fueron identificadas con el recurso de pruebas adicionales, en coincidencia con lo publicado por otros autores (8). Funke *et al.* consideran que API Coryne, versión 2.0, presenta sólo un valor limitado para la identificación de las especies bacterianas ácido-resistentes: *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Tsukamurella*, *Dietzia* y *Nocardia* (8).

Freney *et al.* (1) estudiaron la versión 1.0 de API Coryne en el año 1991, cuando fue introducido en el mercado. De 240 aislamientos de bacilos gram-positivos difteroides analizados, el 97,6% fue correctamente identificado en concordancia con los resultados obtenidos por el método convencional: 158 (65,8%) sin la necesidad de ensayos complementarios, 76 (31,8%) requirieron de pruebas adicionales, 6 (2,5%) no fueron identificados y 6 (2,5%) fueron identificados de forma incorrecta. Otro estudio realizado por Gavin *et al.* (11) demostró que API Coryne, versión 1.0, identificó 90 (86,5%) de 104 cepas del género *Corynebacterium* pero sólo 8 (36,4%) de 22

cepas de otros géneros corineformes relacionados, en ambos casos sin necesidad de pruebas complementarias. Soto, Zapardiel y Soriano encontraron que API Coryne identificó correctamente 105 (65,6%) de 160 aislamientos y un adicional de 35 difteroides (21,8%) fueron identificados con el uso de pruebas complementarias (14). Un trabajo de Funke *et al.* publicado en 1997, fue el primero en mostrar resultados del empleo de la versión 2.0. En este estudio multicéntrico se incluyeron 407 cepas de bacterias corineformes (géneros *Corynebacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Rhodococcus*, *Gordonia* y *Dietzia*): 390 pertenecían a las 49 taxás incluidas en la base de datos 2.0 y 17 a taxás no incluidas. El resultado obtenido con estas 17 cepas no se tomó en cuenta en el momento de evaluar la eficiencia del sistema. El 90,5% de las cepas que pertenecían a las taxás incluidas en la base de datos fueron identificadas correctamente (55,1% requirieron de pruebas adicionales), 5,6% no fueron identificadas y 3,8% fueron identificadas de forma errónea. Los principales problemas de identificación fueron observados con *Corynebacterium coyleae*, *Propionibacterium acnes* y con *Aureobacterium* spp. (incluidos en la base de datos del sistema). Nuestro principal problema de identificación fue con el género *Arthrobacter* aunque no incluimos cepas de *C. coyleae*. La base de datos de API Coryne ha sido actualizada para incluir algunas de las taxás descritas recientemente: la versión 1.0 contenía 33 taxás, mientras que la versión actualizada 2.0 contiene 49 taxás e incluye no sólo los géneros *Corynebacterium*, *Listeria* y *Erysipelothrix* sino también otros recientemente descritos como *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Microbacterium*, *Dermabacter* y *Turicella* (12).

En nuestra experiencia y en coincidencia con Funke *et al.* (8), API Coryne, versión 2.0, es un sistema útil para la identificación de la mayoría de las especies de *Corynebacterium* de importancia clínica como *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. striatum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. amycolatum* y de otros bacilos difteroides como *Archanobacterium haemolyticum*, *Dermabacter hominis* y *Listeria monocytogenes*. Para ciertos bacilos gram-positivos con pigmento amarillo como *Aureobacterium* spp., *Leifsonia aquatica*, *Microbacterium* spp. y *Cellulomonas* spp., y para bacilos que presentan ácido resistencia como *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Tsukamurella* y *Nocardia*, parecen ser necesarios, según la literatura, estudios adicionales para lograr la identificación definitiva (8).

Finalmente debemos destacar la valiosa información que brindan la morfología cultural y microscópica, el tipo de metabolismo, la presencia de pigmento y la hemólisis. Recordemos que estas características no están incluidas en ningún método comercial y son imprescindibles para la identificación de las bacterias corineformes. Además, se debe tener en cuenta que cuando un bacilo gram-positivo

posee metabolismo oxidativo debe evaluarse su ácido resistencia, puesto que en este grupo residen micobacterias, *Nocardia*, y otros actinomicetos "Kinyoun positivos" que no pueden identificarse a través de sistemas comerciales y cuyo impacto clínico puede ser relevante.

Agradecimientos: este trabajo fue realizado con el apoyo del proyecto UBACyT B080.

BIBLIOGRAFÍA

1. Freney J, Duperron MT, Courtier C, Hansen W, Allard F, Boeufgras JM *et al.* Evaluation of API Coryne in comparison with conventional methods of identifying coryneform bacteria. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 38-41.
2. Funke G, Carlotti A. Differentiation of *Brevibacterium* spp. encountered in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1729-32.
3. Funke G, Falsen E, Barreau C. Primary identification of *Microbacterium* spp. encountered in clinical specimens as CDC coryneform group A-4 and A-5 bacteria. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 188-92.
4. Funke G, Hutson RA, Bernard KA, Pfyffer GE, Wauters G, Collins MD. Isolation of *Arthrobacter* spp. from clinical specimens and description of *Arthrobacter cumminsii* sp. nov. and *Arthrobacter woluwensis* sp. nov. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2356-63.
5. Funke G, Pascual Ramos C, Collins MD. Identification of some clinical strains of CDC coryneform group A-3 and A-4 bacteria as *Cellulomonas* species and proposal of *Cellulomonas hominis* sp. nov. for some group A-3 strains. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2091-7.
6. Funke G, Pascual Ramos C, Collins MD. *Corynebacterium coyleae* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 92-6.
7. Funke G, Punter V, von Graevenitz A. Antimicrobial susceptibility patterns of some recently established coryneform bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2874-8.
8. Funke G, Renaud FNR, Freney J, Riegel P. Multicenter evaluation of the updated and extended API (Rapid) Coryne Database 2.0. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3122-6.
9. Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 125-59.
10. Funke G, von Graevenitz A, Weiss N. Primary identification of *Aureobacterium* spp. isolated from clinical specimens as "*Corynebacterium aquaticum*". *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2686-91.
11. Gavin SE, Leonard R, Briselden AM, Coyle MB. Evaluation of the rapid Coryne identification system for *Corynebacterium* species and others coryneforms. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1692-5.
12. Janda WM. The corynebacteria revisited: New species, identification kits, and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Newsl* 1999; 21: 175-82.
13. Riegel P, Ruimy R, Christen R, Monteil H. Species identities and antimicrobial susceptibilities of corynebacteria isolated from various clinical sources. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 657-62.
14. Soto A, Zapardiel J, Soriano F. Evaluation of API Coryne system for identifying coryneform bacteria. *J Clin Pathol* 1994; 47: 756-9.
15. von Graevenitz A, Funke G. An identification scheme for rapidly and aerobically growing gram-positive rods. *Zbl Bakt* 1996; 284: 246-54.