

BD Mueller Hinton Fastidious Agar (MH-F)

VERWENDUNGSZWECK

BD Mueller Hinton Fastidious Agar (MH-F) (Mueller-Hinton-Agar für anspruchsvolle Organismen) wird für antimikrobielle Empfindlichkeitstests bei klinischen Isolaten anspruchsvoller Organismen verwendet, wie sie vom European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standardisiert wurden.¹ Dieses Medium besteht aus Mueller-Hinton-Agar ergänzt mit 5 % mechanisch defibriniertem Pferdeblut und 20 mg/L β -NAD. Aktuelle EUCAST-Richtlinien empfehlen die Verwendung von MH-F für anspruchsvolle Organismen, einschließlich *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni* und *coli*, Streptokokken der Viridans-Gruppe, Streptococcus-Gruppen A, B, C und G, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida* sowie *Corynebacterium* spp.²

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Für antimikrobielle Empfindlichkeitstests bei klinischen Isolaten anspruchsvoller Organismen (einschließlich Blättchen-Diffusionsmethodik und Umsetzung sowie Anweisungen zum Ablesen) sind die aktuellen von EUCAST empfohlenen Verfahren zu beachten.²

Zusammengefasst wird für das antimikrobielle Empfindlichkeitstestverfahren basierend auf der weit verbreiteten Bauer-Kirby-Methode³ ein konfluentes Inokulum aus dem Organismus über die gesamte Oberfläche des Mediums ausgestrichen. Papierblättchen mit einer Imprägnierung aus spezifischen Mengen Antibiotika oder anderen antimikrobiellen Agenzien werden dann auf der Oberfläche des Mediums platziert. Die Platten werden inkubiert und die Hemmzonen um jedes antibiotische Blättchen ausgemessen. Ob der Organismus empfindlich auf (S) oder resistent (R) gegen ein Agens ist, wird durch den Vergleich der erhaltenen Zonengrößen mit den in der Grenzwert-Tabelle von EUCAST aufgeführten bestimmt.⁴

Niedrige Konzentrationen von Thymin-Thymidin und ein kontrollierter Gehalt an Calcium und Magnesium in der Mueller-Hinton-Base beschränken das Wachstum um die Blättchen und ermöglichen präzisere Messungen der Hemmzonen.⁵⁻⁸ Nicht ergänzter Mueller-Hinton-Agar ist zwar geeignet für Empfindlichkeitstests bei schnell wachsenden aeroben Krankheitserregern, jedoch nicht für anspruchsvollere Organismen, die spezifische Wachstumszusätze benötigen. Die Zusammensetzung von Mueller Hinton Fastidious Agar mit defibriniertem Pferdeblut und NAD ermöglicht das Wachstum von anspruchsvollen Bakterien und gewährleistet eine minimale Beeinträchtigung des antimikrobiellen Empfindlichkeitstestergebnisses durch die Rezepturbestandteile. Mueller Hinton Fastidious Agar ist ein häufig verwendetes Testmedium für anspruchsvollere Mikroorganismen (wie oben beschrieben) und macht die Verwendung separater Medien für antimikrobielle Empfindlichkeitstests bei anspruchsvollen Mikroorganismen überflüssig.¹

REAGENZIEN

BD Mueller Hinton Fastidious Agar

Zusammensetzung* pro 1 L destilliertem Wasser

Fleischextrakt	2,0 g
Säurehydrolysat von Casein	17,5 g
Stärke	1,5 g
Agar	17,0 g
Pferdeblut, mechanisch defibriniert	5 %
β -NAD	0,02 g
pH 7,3 \pm 0,1	

*Nach Bedarf auf die Leistungskriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

VORSICHTSMAßNAHMEN

IVD Nur für den professionellen Gebrauch. ⓧ

Platten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden. Übermäßige Schrumpfung dieses Mediums als Folge von Austrocknung kann zu falschen Empfindlichkeitsergebnissen führen. Hinweise zu Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind den **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNGEN** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (siehe Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Packungen mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Für die Qualitätssicherung durch den Anwender sind die EUCAST-Richtlinien hinzuzuziehen.⁹ Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen auf jedem Medium inokulieren (detaillierte Informationen siehe

Probenarten und Testverfahren). Die Platten gemäß der nachfolgend angegebenen Temperatur, Zeit und atmosphärischer Bedingung vorzugsweise in umgedrehter Position inkubieren.

Aussehen des nicht inokulierten Mediums: Rot bis burgunderrot, opak.

Tabelle 1: Zu erwartende Ergebnisse für Qualitätskontrollstämmen gemäß EUCAST-Richtlinien⁹

Stamm	Antibiotikum	Bereich (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Erythromycin (E-15)	26 - 32
	Oxacillin (OX-1)	8 - 14
	Norfloxacin (NOR-10)	18 - 24
	Meropenem (MEM-10)	30 - 38
	Trimethoprim-Sulfamethoxazol (SXT 1,25 – 23,75)	18 - 26
Inkubation: 16 – 20 h, 35 ± 1 °C, CO ₂ -Atmosphäre		

Stamm	Sensi Disc	Bereich (mm)
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49766	Ampicillin (AM-2)	19 - 25
	Cefuroxim (CXM-30)	26 - 34
	Chloramphenicol (C-30)	31 - 37
	Trimethoprim-Sulfamethoxazol (SXT 1,25 – 23,75)	27 - 35
Inkubation: 16 – 20 h, 35 ± 1 °C, CO ₂ -Atmosphäre		

Stamm	Sensi Disc	Bereich (mm)
<i>Campylobacter jejuni</i> DSM 4688	Ciprofloxacin (CIP-5)	34 - 42
	Erythromycin (E-15)	27 - 35
	Tetracyclin (TE-30)	30 - 38
Inkubation: 24 h, 41 ± 1 °C, mikroaerophile Atmosphäre		

VORGEHENSWEISE

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Mueller Hinton Fastidious Agar. Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

1. 0,9 %ige Kochsalzlösung (Mengen von 5 mL) zur Zubereitung des Standard-Inokulums.
2. Bariumsulfat-Vergleichsstandard (0,5 mL 0,048 M BaCl₂ [1,175 % Gew./Vol. BaCl₂·2H₂O] bis 99,5 mL von 0,18 M [0,36 N] H₂SO₄ [1 % Vol./Vol.]) oder
3. Ein photometrisches Gerät zur Einstellung der Trübung der Inokulumsuspension zur Übereinstimmung mit dem McFarland-Standard von 0,5.
4. Als Alternative zu den obigen Materialien (1-3) kann auch das **BD Prompt Inoculation System** (volumetrisches Gerät zur Inokulumzubereitung) verwendet werden.¹⁰
5. Kontrollkultur: *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Haemophilus influenzae* ATCC 49766 und *Campylobacter jejuni* DSM 4688/ATCC 33560.
6. Mit spezifischen Mengen antimikrobieller Agenzien imprägnierte Papierblättchen, z. B. **BD Sensi-Disc**-Empfindlichkeitstestblättchen.
7. Blättchendispensiergerät wie der **BD Sensi-Disc Self-Tamping 6-Place Dispenser** (selbstandrückendes 6-Platz-Dispensiergerät).
8. Lineal oder anderes Instrument zur Messung der Zonengröße in Millimeter.
9. Ein Inkubator, der eine 5%ige CO₂-Atmosphäre erzeugt oder ein anderes Gerät, das eine ähnliche CO₂-angereicherte Atmosphäre produziert.
10. Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Dieses Produkt wird für die Empfindlichkeitsprüfung von Reinkulturen verwendet, die aus klinischen Proben isoliert wurden (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Diese Methodik beschreibt das direkte Koloniesuspensionsverfahren, wie es von EUCAST empfohlen wird.²

1. Eine reine, frische (=über Nacht angelegte) Kultur eines nicht selektiven Mediums muss vorhanden sein. Für routinemäßige Empfindlichkeitsprüfungen kann das Inokulum durch Herstellung einer direkten Kochsalzlösungssuspension mehrerer morphologisch ähnlicher Kolonien zubereitet werden.
2. Das Inokulum zur Übereinstimmung mit dem Bariumsulfatstandard (McFarland-Standard von 0,5) unter Verwendung eines photometrischen Geräts oder visuell an die Dichte eines McFarland-Standards von 0,5 anpassen.
3. Alternative Methoden für die Inokulumzubereitung mit Hilfe von Vorrichtungen, die eine direkte Standardisierung des Inokulums ohne Trübungseinstellung ermöglichen, wie das **BD Prompt Inoculation System**, sind für Routinetests akzeptabel.¹⁰
4. *Streptococcus pneumoniae* wird vorzugsweise von einer Blutagar-Platte auf die Dichte eines McFarland-Standards von 0,5 suspendiert. Wenn *Streptococcus pneumoniae* von einer Schokoladenagar-Platte suspendiert wird, muss das Inokulum einem McFarland-Standard von 1,0 entsprechen.
5. Das Inokulum idealerweise innerhalb von 15 Minuten nach der Einstellung der Trübung verwenden. Die Suspension muss immer innerhalb von 60 Minuten nach der Herstellung verwendet werden. Einen sterilen Tupfer in das korrekt verdünnte Inokulum tauchen und gegen die obere Innenwand des Röhrchens mehrmals fest hin und her drehen, um überschüssige Flüssigkeit auszudrücken, und eine übermäßige Inokulation vermeiden.
6. **BD Mueller Fastidious Agar** durch dreimaliges Ausstreichen der gesamten Agaroberfläche inokulieren und dabei zwischen den einzelnen Ausstreichungen die Platte jeweils um 60° rotieren, um eine gleichmäßige Inokulierung zu erreichen.
7. Die Blättchen innerhalb von 15 Minuten nach der Inokulation unter Beachtung aseptischer Vorsichtsmaßnahmen auf die getrocknete Platte auflegen. Maximal sechs Blättchen auf der Platte absetzen. Die Blättchen nach dem Auflegen auf den Agar mit einer sterilen Kanüle oder Pinzette andrücken, um einen guten Kontakt mit der Medienoberfläche sicherzustellen. Dieser Schritt ist nicht notwendig, wenn die Blättchen mit dem **BD Sensi-Disc** selbstandrückenden Dispensiergerät platziert werden.

8. Innerhalb von 15 Minuten nach dem Aufbringen der Blättchen Platten (vorzugsweise) umdrehen und sie im Inkubator platzieren. Inkubationsbedingungen sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Inkubationsbedingungen für verschiedene anspruchsvolle Organismen gemäß EUCAST²:

Organismus	Inkubationsbedingung
Streptococcus-Gruppen A, B, C und G	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
Streptokokken der Viridans-Gruppe	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
<i>Haemophilus</i> spp.	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
<i>Moraxella catarrhalis</i>	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
<i>Listeria monocytogenes</i>	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
<i>Pasteurella multocida</i>	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden
<i>Corynebacterium</i> spp.	35 ± 1 °C in 4 – 6%igem CO ₂ in der Luft 16 bis 20 Stunden. Isolate mit ausreichend Wachstum werden nach einer Inkubation von 16 bis 20 Stunden sofort weiter inkubiert und Hemmzonen nach einer Gesamtinkubationszeit von 40 bis 48 Stunden abgelesen.
<i>Campylobacter jejuni</i> und <i>coli</i>	41 ± 1 °C in mikroaerober Umgebung 24 Stunden. Einige <i>C. coli</i> -Isolate zeigen nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden möglicherweise nicht ausreichend Wachstum. Sie werden sofort weiter inkubiert und Hemmzonen nach einer Gesamtinkubationszeit von 40 bis 48 Stunden abgelesen.

AbleSEN der Ergebnisse

1. Nach der Inkubation sollte ein konfluierendes Wachstum sichtbar sein. Wenn nur einzeln stehende Kolonien gewachsen sind, war das Inokulum zu schwach und der Test muss wiederholt werden.
2. Nach der Inkubation wird der Durchmesser der Zonen mit kompletter Hemmung (nach Bewertung mit dem bloßem Auge) einschließlich des Blättchendurchmessers mit abgenommenen Plattendeckel und der Platte etwa 30 cm vom Auge entfernt auf den nächsten vollen Millimeter mit einem Zirkel oder Lineal gemessen.
3. Die Grenze sollte als der Bereich betrachtet werden, in dem mit bloßem Auge kein Wachstum festzustellen ist. Geringfügiges Wachstum sehr kleiner Kolonien, das nur schwer am Rand der Hemmzone sichtbar ist, sollte ignoriert werden.
4. Wenn nicht ausdrücklich anders angegeben, sollte im Fall von Doppelzonen die innere Zone gemessen werden.^{2,4,9,11}
5. Bei hämolysierenden Streptokokken die Wachstumshemmung und nicht die Hemmung der Hämolyse ablesen. Die β -Hämolyse zeigt in der Regel kein Wachstum, während α -Hämolyse und Wachstum sich üblicherweise decken.

Interpretation der Ergebnisse

Hemmzonen Durchmesser unter Bezugnahme auf die Grenzwert-Tabellen interpretieren.² Die mit spezifischen Organismen erhaltenen Ergebnisse werden dann entweder als resistent oder empfindlich bezeichnet. Zusätzliche Informationen zu spezifischen Wachstumscharakteristika und Interpretation sowie andere Leitfäden können unter www.eucast.org bezogen werden.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Mueller Hinton Fastidious Agar wurde für von EUCAST empfohlene antimikrobielle Empfindlichkeitstests bei anspruchsvollen Organismen entwickelt.¹ Die Grenzwert-Tabellen für die Interpretation der Empfindlichkeit werden jährlich aktualisiert² und für eine korrekte Interpretation der erhaltenen Ergebnisse sollte die neueste Fassung herangezogen werden.

Leistungsergebnisse

Interne Leistungsbeurteilung

Die Leistung von **BD Mueller Hinton Fastidious Agar** wurde unter Verwendung der empfohlenen Qualitätskontrollstämmen (QK)⁹ (siehe Tabelle 3) und 151 zusätzlichen, zuvor charakterisierten Stämmen (siehe Tabelle 4) validiert, einschließlich *Corynebacterium* spp., Streptokokken der Viridans-Gruppe, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis*, Streptokokken der Gruppen A, B, C und G, *Haemophilus* ssp. sowie *Streptococcus pneumoniae*.

In Tabelle 3 werden die validierten antimikrobiellen Agenzien für die QK-Stämme zusammengefasst. Sofern nicht anders angegeben, lagen die ermittelten Größen der Hemmzonen für die validierten antimikrobieller Agenzien innerhalb der festgelegten Hemmzonen-Durchmesserbereiche von EUCAST.⁹ Für *H. influenza* ATCC 49766 zeigte Amoxicillin-Clavulansäure Hemmzonen außerhalb der von EUCAST empfohlenen Bereiche.⁹ Für *S. pneumoniae* ATCC 49616 zeigten Cefepim, Cefpodoxim und Cefuroxim Hemmzonen außerhalb der von EUCAST empfohlenen Bereiche.⁹

Antimikrobielle Empfindlichkeitstests bei den 151 zusätzlichen, zuvor charakterisierten anspruchsvollen Bakterien (siehe Tabelle 4) deuteten auf (zufriedenstellendes) [mäßiges bis gutes] Wachstum nach empfohlenen Inkubationszeiten hin. Somit wird ein angemessenes Ablesen von Hemmzonen und Ermitteln der jeweiligen antimikrobiellen Resistenz gemäß den EUCAST-Grenzwerten ermöglicht⁴.

Tabelle 3: Validierte antimikrobielle Agenzien und Qualitätskontrollstämme. Sofern nicht anders angegeben, lagen die Hemmzonen-Durchmesser innerhalb der jeweiligen EUCAST-Bereiche.⁹ Abweichende Hemmungszonen sind angegeben.

Antibiotikum	Blättcheninhalt (µg)	<i>H. influenzae</i> ATCC 49766	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49616	<i>C. jejuni</i> ATCC 33560	<i>H. influenzae</i> NCTC 8468*
Ampicillin	2	✓	✓		✓
Amoxicillin-Clavulansäure	2-1	20 – 30 mm ¹			✓
Benzylpenicillin	1 Einheit	✓	✓		✓
Cefaclor	30		✓		✓
Cefepim	30	✓	35 – 39 mm ¹		✓
Cefixim	5	✓			✓
Cefotaxim	5	✓	✓		✓
Cefpodoxim	10	✓	33 – 39 mm ¹		✓
Ceftarolin	5	-	-		
Ceftibuten	30	✓			✓
Ceftriaxon	30	✓	✓		✓
Cefuroxim	30	✓	33 – 38 mm ¹		✓
Chloramphenicol	30	✓	✓		✓
Ciprofloxacin	5	✓	✓	✓	✓
Clindamycin	2		✓		
Doripenem	10	✓	✓		✓
Ertapenem	10	✓	✓		✓
Erythromycin	15	✓	✓	✓	✓
Imipenem	10	✓	✓		✓
Levofloxacin	5	✓	✓		✓
Linezolid	10		✓		
Meropenem	10	✓	✓		✓
Minocyclin	30	✓	✓		✓
Moxifloxacin	5	✓	✓		✓
Nalidixinsäure	30	✓			✓
Nitrofurantoin	100		✓		
Norfloxacin	10		✓		
Ofloxacin	5	✓	✓		✓
Oxacillin	1		✓		
Rifampicin	5	✓	✓		✓
Teicoplanin	30		✓		
Telithromycin	15	✓	✓		✓
Tetracyclin	30	✓	✓	✓	✓
Tigecyclin	15		✓		
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	1,25-23,75	✓	✓		✓
Vancomycin	5		✓		

✓ Kennzeichnet Hemmungszonen innerhalb des EUCAST-Bereichs.⁹

¹ Die durchschnittlichen Hemmungszonenbereiche liegen außerhalb der empfohlenen EUCAST-QK-Bereiche. Für einen Vergleich die neueste QK-Empfehlungen von EUCAST heranziehen.⁹

* *H. influenzae* NCTC 8468 wurde im Jahr 2016 aufgrund ungewöhnlicher Wachstumscharakteristika aus den QK-Tabellen ausgeschlossen. *H. influenzae* ATCC 49766 wird stattdessen für die routinemäßige QK empfohlen.⁹

Tabelle 4: Übersicht über die validierten anspruchsvollen Organismen und antimikrobiellen Agenzien.

Antibiotikum	Blättcheninhalt (µg)	Gesamtanzahl der Stämme: 151																											
		<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. aphrophilus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	Streptokokken der Gruppe A, B, C, G	Streptokokken der Gruppe D	<i>M. catarrhalis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	<i>C. striatum</i>	<i>C. jeikeium</i>	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. xerosis</i>	<i>C. urealyticum</i>	<i>C. afermentans</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>P. multocida</i>										
		19	6	1	19	41	22	7	9	4	3	3	2	1	2	1	6	4	3										
Ampicillin	2	✓				✓		✓									✓												
Amoxicillin-Clavulansäure	2-1	✓					✓																			✓			
Benzylpenicillin	1 Einheit	✓				✓	✓										✓	✓							✓				
Cefaclor	30			✓																									
Cefazolin	30					✓																							
Cefepim	30	✓				✓												✓											
Cefixim	5	✓					✓																						
Cefotaxim	5	✓				✓	✓											✓											
Cefpodoxim	10	✓					✓																						
Ceftarolin	5																												
Ceftibuten	30	✓																											
Ceftriaxon	30	✓				✓	✓																						
Cefuroxim	30	✓				✓	✓																						
Chloramphenicol	30	✓		✓	✓		✓																						
Ciprofloxacin	5	✓		✓			✓			✓							✓	✓											
Clindamycin	2			✓	✓	✓				✓																			
Doripenem	10	✓					✓																						
Ertapenem	10	✓					✓																						
Erythromycin	15	✓		✓	✓		✓	✓																	✓				
Gentamicin	10										✓																		
Imipenem	10	✓						✓																					
Levofloxacin	5	✓		✓	✓			✓																					
Linezolid	10			✓	✓																	✓							
Meropenem	10	✓						✓	✓																				
Minocyclin	30	✓		✓	✓			✓																					
Moxifloxacin	5	✓		✓	✓			✓														✓							
Nalidixinsäure	30	✓						✓													✓								
Nitrofurantoin	100				✓																								
Norfloxacin	10			✓	✓																								
Ofloxacin	5			✓			✓			✓																			
Oxacillin	1			✓																									
Rifampicin	5	✓		✓	✓																								
Teicoplanin	30			✓	✓	✓																							
Telithromycin	15	✓		✓	✓		✓																						
Tetracyclin	30	✓		✓	✓		✓										✓								✓	✓			
Tigecyclin	15				✓																								
Trimethoprim	5				✓																								
Trimethoprim-Sulfamethoxazol	1,25-2,75			✓			✓	✓											✓	✓									✓
Vancomycin	5			✓	✓	✓				✓																			

Externe Leistungsbeurteilung

In einer externen Leistungsbeurteilung wurden 167 (charakterisierte) klinische Isolate mit BD Mueller Hinton Fastidious Agar getestet. Ein zeitgleicher Vergleich der Empfindlichkeitsergebnisse mit einem andern verfügbaren Mueller Hinton Fastidious-Medium zeigte eine Äquivalenzrate von 99,8 % für die ermittelte Resistenzkategorie (S, empfindlich, R, resistent bzw. I, intermediär). BD MH-F unterstützte ein (zufriedenstellendes) Wachstum aller getesteten Organismen bei einer Inkubation mit der empfohlenen Inkubationszeit.

Tabelle 5: Getestete klinische Isolate mit BD Mueller Hinton Fastidious Agar während der externen Leistungsbeurteilung

Stamm/Isolat	Getestete Antibiotika	Stamm-Nr.
<i>Haemophilus influenzae</i>	24	28
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27	32
<i>Campylobacter jejuni</i>	3	31
<i>Streptococcus</i> -Gruppen A, B, C und G	9	18
Streptokokken der Viridans-Gruppe	14	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	9	11
<i>Pasteurella multocida</i>	9	4
<i>Pasteurella canis</i>	9	1
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	10
<i>Campylobacter coli</i>	3	10
<i>Corynebacterium</i> ssp.	9	10
<i>Haemophilus</i> ssp.	6	12
Gesamtanzahl der Stämme		167

Verfahrensbeschränkungen

Die Empfindlichkeitsprüfung mittels Blättchendiffusion wurde nur für die Verwendung mit Reinkulturen konzipiert. Vor der Vorbereitung der Empfindlichkeitsprüfung empfiehlt sich eine Gramfärbung und eine präsumtive Identifizierung des Isolates.

Bei manchen Kombinationen von Organismen und Antibiotika hat die Hemmzone ggf. keinen deutlich abgegrenzten Rand (bei *S. pneumoniae* wurden unscharfe Zonenränder beobachtet), was zu einer falschen Interpretation führen könnte. Detaillierte Informationen sind der EUCAST-Anleitung zum Ablesen zu entnehmen.¹¹

Verschiedene Faktoren, welche die Empfindlichkeitsprüfung durch Blättchendiffusion beeinträchtigen können, wurden identifiziert. Zu diesen Faktoren gehören das verwendete Medium, Agartiefe, Blättchenwirksamkeit, Inokulumkonzentration, Alter des Inokulums und pH-Wert.¹²

Eine falsche Inokulumkonzentration kann zu falschen Ergebnissen führen. Bei einem Inokulum mit zu hoher Konzentration können die Hemmzonen zu klein ausfallen und bei zu niedriger Konzentration können die Hemmzonen schwer zu messen sein. Daher wird dringend empfohlen, beim Umgang mit Inokulum und inokulierten Platten die EUCAST-Richtlinien zu befolgen, um das potenzielle Risiko falscher Ergebnisse aufgrund unsachgemäßer Handhabung zu minimieren.¹

Unsachgemäße Lagerung der Antibiotika-Blättchen kann zum Verlust der Wirksamkeit und falschen Resistenzergebnissen führen. Übermäßige Schrumpfung des Mediums als Folge von unsachgemäßer Lagerung kann zu falsch-resistenten Ergebnissen führen.

Die In-vitro-Empfindlichkeit eines Mikroorganismus gegenüber einem bestimmten Antibiotikum bedeutet nicht unbedingt, dass dieses Antibiotikum auch in vivo wirksam ist. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist die einschlägige Fachliteratur zu konsultieren.^{12,13}

LITERATUR

1. Matuschek, E., Brown, D.F. and Kahlmeter, G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clin Microbiol Infect. 2014; 20(4): 255-66.
2. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Neueste Version abrufbar unter* www.eucast.org.
3. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M, Sherris, J.C., and Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 1966: 45:493-496.
4. EUCAST breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. *Neueste Version abrufbar unter* www.eucast.org.
5. Koch, A.E. and Burchall, J.J. Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. Appl. Microbiol. 1971; 22:812-817.
6. Ferone, R., Bushby, S.R.M., Burchall, J.J., Moore, W.D., and Smith, D. Identification of Harper-Cawston factor as thymidine phosphorylase and removal from media of substances interfering with susceptibility testing to sulfonamides and diaminopyrimidines. Antimicrob. Agents Chemother. 1975; 7:91-98.
7. Reller, L.G., Schoenknecht, F.D., Kenny, M.A., and Sherris, J.C. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. J. Infect. Dis. 1974: 130:454-463.
8. D'Amato, R.F., and Thornsberry, C. Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. Current Microbiol. 1979: 2:135-138.
9. EUCAST QC tables for interpretation of MICs and zone diameters for quality control strains. *Neueste Version abrufbar unter* www.eucast.org.
10. Baker, C.N., Thornsberry, C. and Hawkinson R.W. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. J. Clin. Microbiol. 1983: 17:450-457.
11. EUCAST Reading Guide. *Neueste Version abrufbar unter* www.eucast.org.
12. Washington, J.A., and Woods G.L. 1995. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. p. 1327-1341. In Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C., and Tenover, R.H. (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1995.
13. Neumann, M.A., Sahm, D.F., Thornsberry, C., McGowan, J.E., Jr. Cumitech 6A, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing: a practical guide. Coordinating ed., J.E. McGowan, Jr. American Society of Microbiology, Washington, D.C. 1991.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Mueller Hinton Fastidious Agar

Best.- Nr.	Beschreibung
REF 257491	Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>
<http://www.bd.com/europe/regulatory>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company
© 2016 Becton, Dickinson and Company