
**BD Mueller Hinton II Agar
BD Mueller Hinton II Agar 150 mm
BD Mueller Hinton II Agar, Square****VERWENDUNGSZWECK**

BD Mueller Hinton II Agar ist in mehreren Plattenformaten erhältlich und wird für das standardisierte Blättchen-Diffusionsverfahren zur Bestimmung der Empfindlichkeit klinischer Isolate von schnell wachsenden aeroben Organismen gegen antimikrobielle Agenzien verwendet, wie es vom Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) und dem European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standardisiert wurde.^{1,2}

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Da klinische Mikrobiologielabors in den frühen 1960ern eine breite Vielzahl verschiedener Verfahren benutzten, um die Empfindlichkeit von Bakterien gegen antibiotische und chemotherapeutische Agenzien zu bestimmen, haben Bauer, Kirby und andere ein standardisiertes Verfahren entwickelt, für welches Mueller-Hinton-Agar, ursprünglich als Medium zur Isolierung von Gonokokken konzipiert, als Testmedium ausgewählt wurde.¹⁻⁵ Eine nachfolgende internationale Gemeinschaftsstudie hat aufgrund der relativ guten Reproduzierbarkeit des Mediums, der Einfachheit seiner Rezeptur und der großen Fülle der bereits mit diesem Medium gesammelten Versuchsdaten, den Nutzen von Mueller-Hinton-Agar für diesen Zweck bestätigt.⁶

CLSI und EUCAST haben Leistungsstandards für das Bauer-Kirby-Verfahren herausgegeben, welche für ausführliche Informationen hinzugezogen werden sollten.^{7,8} Es wurden auch andere, nationale Richtlinien für die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung nach der Bauer-Kirby-Methode entwickelt. In diesen Richtlinien können sich die Inokulumdichte, die Inokulierungsmethode, die resultierenden Zonengrößen und die Art und Weise der Interpretation von jenen der CLSI- und EUCAST-Empfehlungen unterscheiden.

Das Bauer-Kirby-Verfahren basiert auf der Diffusion von antimikrobiellen Substanzen durch ein Agargel, mit welchen Papierblättchen imprägniert wurden.⁹ Im Gegensatz zu früheren Verfahren, für die Blättchen mit hohen und niedrigen antimikrobiellen Konzentrationen verwendet wurden, und für die das Vorhandensein oder Fehlen von Hemmzonen als Interpretationsgrundlage diente, werden für dieses Verfahren Blättchen mit einer einzigen Konzentration eines antimikrobiellen Agens verwendet und die Zonendurchmesser werden mit der minimalen Hemmkonzentration (MHK) in Beziehung gesetzt.^{1-3,7-9}

Im Testverfahren wird eine standardisierte Suspension aus dem Organismus über die gesamte Oberfläche des Mediums ausgestrichen. Papierblättchen, die mit festgelegten Mengen von Antibiotika oder anderen antimikrobiellen Substanzen imprägniert sind, werden danach auf die Oberfläche des Mediums gelegt, die Agarplatte wird inkubiert und die Hemmzone um jedes Blättchen wird gemessen. Ob der Organismus empfindlich (S), intermediär (I) oder resistent (R) gegenüber einem Agens ist, wird durch den Vergleich der erhaltenen Zonengrößen mit jenen in Tabellen 2A bis 2D des CLSI-Dokuments M100 (M2) bestimmt.¹⁰ Ob der Organismus empfindlich (S) oder resistent (R) gegenüber einem Agens ist, wird durch den Vergleich der erhaltenen Zonengrößen mit den in der Grenzwert-Tabelle von EUCAST aufgeführten Zonengrößen bestimmt.¹¹

Verschiedene Faktoren, welche die Empfindlichkeitsprüfung durch Blättchendiffusion beeinträchtigen können, wurden identifiziert. Zu diesen Faktoren gehören das verwendete Medium, übermäßige Feuchtigkeit der Mediumoberfläche, Agartiefe, Blättchenwirksamkeit, Inokulumkonzentration, pH-Wert und β -Lactamase-Produktion des Testorganismus.^{6-9,12}

BD Mueller Hinton II Agar wird mit einem niedrigen Gehalt an Thymin und Thymidin und einem kontrollierten Gehalt an Calcium und Magnesium hergestellt.¹⁵⁻¹⁷ Der Thymin- und Thymidingehalt der Rohmaterialien wird mit dem Blättchen-Diffusionsverfahren mit Thrimethoprim-Sulfamethoxazol(SXT)-Blättchen und *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 bestimmt. Der Calcium- und Magnesiumgehalt wird durch die Prüfung des Rohmaterials und Zugabe von Calcium- und/oder Magnesiumquellen zur Erreichung der korrekten Zonendurchmesser mit Aminoglykosid-Antibiotika und *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kontrolliert.

Die Agartiefe der **BD Mueller Hinton II Agar**-Plattenformate wurde gemäß den CLSI- und EUCAST-Empfehlungen angepasst.^{7,8}

REAGENZIEN

BD Mueller Hinton II Agar

Zusammensetzung* pro Liter destilliertem Wasser

Rindfleischextrakt	2,0 g
Säurehydrolysat von Casein	17,5
Stärke	1,5
Agar	17,0

pH 7,3 $\pm$ 0,2

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

VORSICHTSMAßNAHMEN

IVD . Nur zum Gebrauch durch Fachpersonal. 

Platten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissbildung oder bei sonstigen Anzeichen einer Qualitätsverschlechterung 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 eine Woche verwendet werden.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Für die Qualitätssicherung durch den Anwender sind die entsprechenden CLSI¹⁰- und EUCAST¹⁸-Standards oder gegebenenfalls die nationalen Richtlinien hinzuzuziehen.

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. **BD Mueller Hinton II Agar**-Platten und die antimikrobiellen Blättchen sollten mindestens zweimal wöchentlich auf eine einwandfreie Leistung überprüft werden.

Tabelle 1: Zu erwartende Ergebnisse für die Hemmzonen-Durchmesserbereiche der Qualitätskontrollstämmen gemäß CLSI¹⁹ und EUCAST²⁰

Stamm	Antibiotikum	Bereich (mm)	Inkubation
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ¹	Ampicillin (10 µg)	15-22	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Imipenem (10 µg)	26-32	
	Gentamicin (10 µg)	19-26	
	Amikacin (30 µg)	19-26	
	Ciprofloxacin (5 µg)	30-40	
	Trimethoprim-Sulfamethoxazol (SXT) (1,25 µg – 23,75 µg)	23-29	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 ¹	Amoxicillin/Clavulansäure (30 µg)	17-22	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Ampicillin/Sulbactam (30 µg)	13-19	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 ²	Trimethoprim/Sulfamethoxazol (1,25 µg – 23,75 µg)	26-34	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Ciprofloxacin (5 µg)	19-25	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ³	Tetracyclin (30 µg)	24-30	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Gentamicin (10 µg)	19-27	
	Erythromycin (15 µg)	22-30	
	Clindamycin (2 µg)	24-30	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 ²	Tetracyclin (30 µg)	23-31	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Gentamicin (10 µg)	19-25	
	Erythromycin (15 µg)	23-29	
	Clindamycin (2 µg)	23-29	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 ¹	Aztreonam (30 µg)	23-29	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Amikacin (30 µg)	18-26	
	Gentamicin (10 µg)	17-23	
	Imipenem (10 µg)	20-28	
Nicht inokuliert	Farblos bis hell bernsteinfarben		

¹: Ergebnisse für Qualitätskontrollstämmen gemäß CLSI und EUCAST

²: Ergebnisse für Qualitätskontrollstämmen gemäß EUCAST

³: Ergebnisse für Qualitätskontrollstämmen gemäß CLSI

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Mueller Hinton II Agar (erhältlich in verschiedenen Plattenformaten; siehe **Verpackung/Lieferbare Produkte**). Mikrobiologisch kontrolliert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- Gemäß CLSI: Inokulumbouillon in Röhrchen, z. B. **BD Trypticase™ Soy Broth** (Casein-Soja-Pepton-Bouillon) oder Mueller-Hinton-II-Bouillon (Kationen-adjustiert) für die Zubereitung eines Standardinokulums und sterile Bouillon oder Salzlösung für die Verdünnung des Inokulums.⁷
Gemäß EUCAST: 0,9%ige Kochsalzlösung (Mengen von 5 mL) zur Zubereitung des Standard-Inokulums.⁸
- 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
- Ein photometrisches Gerät zur Einstellung der Trübung der Inokulumsuspension zur Übereinstimmung mit dem 0,5 McFarland Standard.

4. Als Alternative zu den obigen Materialien (1-3) kann auch das **BD Prompt™ Inoculation System** (volumetrisches Gerät zur Inokulumzubereitung) verwendet werden.^{7,8,25}
5. Kontrollkulturen gemäß CLSI: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 und ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 und *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.¹⁰
Kontrollkulturen gemäß EUCAST: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 und ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 und ATCC 51299, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 und *Staphylococcus aureus* NCTC 12493.¹⁸
6. Mit spezifischen Mengen antimikrobieller Agenzien imprägnierte Papierblättchen^{7,8}, z. B. **BD Sensi-Disc™**-Empfindlichkeitstestblättchen.
7. Dispensiergerät, z. B. das **BD Sensi-Disc** 6-, 8- oder 12-Platz-Dispensiergerät. Auch für die quadratischen Mueller-Hinton-II-Agar-Platten ist ein geeignetes Dispensiergerät erhältlich.
8. Lineal oder anderes Instrument zur Messung der Zonengröße in Millimeter.
9. 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**). Es wurde vorgeschlagen, antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfungen direkt auf Blutkulturen und Urinkulturen durchzuführen. Diese Tests sollten jedoch mit Reinkulturen wiederholt und bestätigt werden.²¹⁻²⁴

Testverfahren

Diese Methodik beschreibt das direkte Koloniesuspensionsverfahren, wie es von CLSI⁷ und EUCAST⁸ empfohlen wird:

1. Eine reine, frische (= über Nacht angelegte) Kultur eines nicht selektiven Mediums wie z. B. Blutagar muss vorhanden sein.
Gemäß von CLSI: Für routinemäßige Empfindlichkeitsprüfungen kann das Inokulum durch Herstellung einer direkten Kochsalzlösungs- oder Bouillonsuspension von Kolonien vorbereitet werden.
Gemäß EUCAST: Für routinemäßige Empfindlichkeitsprüfungen kann das Inokulum durch Herstellung einer direkten Kochsalzlösungssuspension mehrerer morphologisch ähnlicher Kolonien vorbereitet werden.
2. Diese Suspension umgehend an die Trübung des McFarland-Bariumsulfat-Standards 0,5 ohne Inkubation anpassen. Die Trübung des Standards und des Testinokulums vergleichen, indem beide Röhrchen vor einen weißen Hintergrund mit feinen schwarzen Linien gehalten werden. Als Alternative kann ein photometrisches Gerät verwendet werden.
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.²⁵
4. Das Inokulum idealerweise innerhalb von 15 Minuten verwenden. Die Suspension muss immer innerhalb von 60 Minuten nach der Herstellung verwendet werden. Einen sterilen Tupfer in das korrekt verdünnte Inokulum eintauchen und gegen die obere Innenwand des Röhrchens mehrmals fest hin und her drehen, um überschüssige Flüssigkeit auszudrücken und eine übermäßige Inokulation zu vermeiden.
5. Die gesamte Agaroberfläche drei Mal inokulieren und die Agarplatte dabei jedes Mal um 60 Grad drehen, um eine gleichmäßige Inokulation zu erzielen.
6. Gemäß CLSI: Der Deckel kann 3 bis 5 min, jedoch nicht länger als 15 min geöffnet bleiben, damit eventuelle oberflächliche Feuchtigkeit vor dem Aufbringen der Arzneimittel-imprägnierten Blättchen absorbiert wird. Die Blättchen mithilfe eines antimikrobiellen Dispensiergeräts unter Beachtung aseptischer Vorsichtsmaßnahmen auflegen. Dabei die Blättchen so absetzen, dass deren Zentren mindestens 24 mm auseinander liegen.
Gemäß EUCAST: 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.

7. 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 Auflegen der Blättchen die Platten umdrehen und sie in den Inkubator geben. Die Platten dürfen nicht unter erhöhter Kohlendioxidkonzentration inkubiert werden. Die empfohlenen Inkubationsbedingungen erhalten Sie von CLSI und EUCAST.^{7,8,10,11}

Ablesen der Ergebnisse

1. Nach der Inkubation sollte ein konfluierender Bakterienrasen vorhanden sein. Wenn nur einzeln stehende Kolonien gewachsen sind, war das Inokulum zu schwach und der Test muss wiederholt werden.
2. Gemäß CLSI: Mit einer Schieblehre, einem Lineal oder einer zweckbestimmten Schablone die Durchmesser der Zonen vollständiger Hemmung (mit bloßem Auge zu erkennen) einschließlich des Blättchendurchmessers messen und auf den nächsten Millimeter auf- oder abrunden. Das Messinstrument vor einem schwarzen, nicht reflektierenden Hintergrund auf den Boden der umgedrehten Platte halten und von oben beleuchten.⁷
Gemäß EUCAST: Mit einer Schieblehre oder einem Lineal die Durchmesser der Zonen vollständiger Hemmung (mit bloßem Auge zu erkennen) einschließlich des Blättchendurchmessers messen und auf den nächsten Millimeter auf- oder abrunden. Das Messinstrument vor einem schwarzen Hintergrund auf den Boden der umgedrehten Platte halten und mit reflektiertem Licht beleuchten. Die Platte wird ungefähr 30 cm vom Auge entfernt gehalten.⁸
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. Gemäß CLSI: Mit Oxacillinblättchen getestete *Staphylococcus aureus* stellen eine Ausnahme dar, ebenso wie mit Vancomycin getestete Enterokokken. In diesen Fällen sollte Durchlicht verwendet werden, um einen Wachstumsschleier um das Blättchen herum zu entdecken, welcher von verborgenen resistenten MRSA-Stämmen oder Vancomycin-resistenten Enterokokken gebildet wird.^{7,26} Bei *Proteus*-Spezies kann eventuelles Schwärmen innerhalb der Zone ignoriert werden, wenn die Hemmzone für eine Messung deutlich genug ist. Bei Trimethoprim und den Sulfonamiden können Antagonisten im Medium geringfügiges Wachstum ermöglichen; geringfügiges Wachstum (20 % oder weniger des Rasens) daher ignorieren und den deutlicheren Rand ausmessen, um den Hemmzonendurchmesser zu bestimmen.
Gemäß EUCAST: Wenn nicht ausdrücklich anders angegeben, sollte im Fall von Doppelzonen die innere Zone gemessen werden.⁸

Berechnung und Interpretation der Ergebnisse

Gemäß CLSI:

Die um die Blättchen gemessenen Zonendurchmesser sollten mit jenen in den Tabellen 2A bis 2D im CLSI-Dokument M100 (M2) verglichen werden.¹⁰ Die mit spezifischen Organismen erhaltenen Ergebnisse werden dann entweder als resistent, intermediär oder empfindlich bezeichnet.

Gemäß EUCAST:

Zonendurchmesser unter Bezugnahme auf die Grenzwert-Tabellen interpretieren.¹¹ Die mit spezifischen Organismen erhaltenen Ergebnisse werden dann entweder als resistent oder empfindlich bezeichnet. Zusätzliche Informationen zu spezifischen Wachstumscharakteristika und Interpretation sowie andere Leitfäden erhalten Sie von EUCAST.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Mueller-Hinton-Agar ist das Standardmedium für die Empfindlichkeitsprüfung von schnell wachsenden aeroben oder fakultativ anaeroben bakteriellen Bakterien, wie z. B. Staphylokokken, Enterokokken, Mitglieder der *Enterobacteriaceae* und aerobe, gramnegative Stäbchen (z. B. *Pseudomonas* spp). Die Leitfäden für die Interpretation der Empfindlichkeit werden jährlich aktualisiert und für eine korrekte Interpretation der erhaltenen Ergebnisse sollte die neueste Fassung herangezogen werden.^{10,11} Unterschiedliche Verfahren und andere Medien und Bedingungen wurden für die Überprüfung von anspruchsvollen Spezies entwickelt, z. B. *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp. und *Streptococcus pneumoniae* sowie Streptokokken.

Das standardisierte CLSI- und EUCAST-Verfahren wird nicht eingesetzt zur Überprüfung von obligaten anaeroben Organismen, Organismen mit schwacher oder langsamer Wachstumsrate auf Mueller-Hinton-Agar oder Organismen, welche ausgeprägte Variationen der Wachstumsrate zwischen den einzelnen Stämmen aufweisen.^{7,8} Anspruchsvolle Organismen (z. B. *Haemophilus influenzae*) sollten gemäß den CLSI- und EUCAST-Empfehlungen getestet werden.^{7,8}

Interne Leistungsbeurteilung

Die Leistung von **BD Mueller Hinton II Agar** (alle Plattenformate) wurde unter Verwendung der empfohlenen Qualitätskontrollstämme (QK) intern validiert, einschließlich jener mit charakteristischen Resistenzmechanismen (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Staphylococcus aureus* NCTC 12493, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 mit Amoxicillin/Clavulansäure AMC-3).^{19,20,34}

In Tabelle 2 sind die validierten antimikrobiellen Agenzien für die Qualitätskontrollstämme und Stämme mit charakterisierten Resistenzmechanismen zusammengefasst. Sofern nicht anders angegeben, lagen die bestimmten Größen der Hemmzonen für die validierten antimikrobiellen Agenzien innerhalb der festgelegten Hemmzonen-Durchmesserbereiche von CLSI und EUCAST.^{19,20}

Zusätzliche Untersuchungen zur Leistung mithilfe von klinischen MRSA-Isolaten, die den *mecC*-Resistenztyp enthielten, zeigten, dass mit **BD Mueller Hinton II Agar** *mecC*-positive MRSA-Stämme genau nachgewiesen werden.^{34,35}

Tabelle 2: Übersicht über validierte antimikrobielle Agenzien und Qualitätskontrollstämme. Sofern nicht anders angegeben, lagen die Hemmzonen-Durchmesser innerhalb der jeweiligen CLSI- und/oder EUCAST-Bereiche.^{19,20}

Antibiotikum	Blättcheninhalt (µg)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ^{10,18}	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 ^{10,18}	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 ^{10,18}	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹⁸	<i>E. coli</i> ATCC 35218 ^{10,18}	<i>S. aureus</i> NCTC 12493 ¹⁸	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 ^{10,18}	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 ¹⁸
Amikacin	AN-30	✓	✓		✓				
Amoxicillin-Clavulansäure	AMC-3				✓				
	AMC-30	✓				5			
Ampicillin	AM-2			3	✓				
	AM-10	✓							
Ampicillin/Sulbactam	SAM-20	✓				✓			
Aztreonam	ATM-30	✓	✓					✓	
Benzylpenicillin	P-1				✓				
Cefadroxil	CFR-30	✓ ¹							
Cefalexin	CN-30	✓ ¹							
Cefepim	FEP-30	✓	✓						
Cefixim	CFM-5	✓							
Cefotaxim	CTX-5	✓ ²						✓ ²	
Cefoxitin	FOX-30	✓			✓		✓		
Cefpodoxim	CPD-10	✓						✓	
Ceftarolin	CPT-5	✓ ²			✓				
Ceftazidim	CAZ-10	✓ ²	✓ ²					✓ ²	
Ceftibuten	CFT-30	✓							
Ceftriaxon	CRO-30	✓						✓	
Cefuroxim	CXM-30	✓							
Chloramphenicol	C-30	✓			✓				
Ciprofloxacin	CIP-5	✓	✓	✓	✓				
Clindamycin	CC-2				✓				
Doripenem	DOR-10	✓	✓						
Ertapenem	ETP-10	✓							
Erythromycin	E-15				✓				
Fusidinsäure	FA-10				✓				
Gentamicin	GM-10	✓	✓		✓				
	GM-30			✓					✓
Imipenem	IPM-10	✓	✓	✓					
Levofloxacin	LVX-5	✓	✓	✓	✓				
Linezolid	LZD-10			✓	✓				
Mecillinam	MEC-10	✓							
Meropenem	MEM-10	✓	✓						
Minocyclin	MI-30				✓				
Moxifloxacin	MXF-5	✓			✓				
Mupirocin	MUP-200				✓				
Nalidixinsäure	NA-30	✓							

Tabelle 2: (Fortsetzung)

Antibiotikum	Blättcheninhalt (µg)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 ^{10,18}	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 ^{10,18}	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 ^{10,18}	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 ¹⁸	<i>E. coli</i> ATCC 35218 ^{10,18}	<i>S. aureus</i> NCTC 12493 ¹⁸	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 ^{10,18}	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 ¹⁸
Netilmicin	NET-10	✓ ²	✓ ²		✓				
Nitrofurantoin	FM-100	✓ ²		✓	✓				
Norfloxacin	NOR-10	✓		✓	✓				
Ofloxacin	OFX-5	✓			✓				
Pefloxacin	PEF-5	✓							
Piperacillin	PIP-30	✓ ²							
Piperacillin/Tazobactam	PIP-30/TAZ-6	✓ ²	✓ ²			✓ ²			
Quinupristin/Dalfopristin	SYN-15			✓	✓				
Rifampicin	RA-5				✓				
Streptomycin	S-300			6					
Teicoplanin	TEC-30			✓					✓
Tetracyclin	TE-30				✓				
Ticarcillin	TIC-75	✓							
Ticarcillin/Clavulansäure	TIM-85	✓	✓			✓			
Tigecyclin	TGC-15	✓		✓	✓				
Tobramycin	NN-10	✓	✓		✓				
Trimethoprim	TMP-5	✓		✓	4				
Trimethoprim/Sulfamethoxazol	SXT 1,25 – 23,75	✓		✓	✓				
Vancomycin	VA-5			✓					✓

✓ Gekennzeichnete Hemmungszonen liegen innerhalb des EUCAST- und CLSI-Bereichs.

¹ CLSI empfiehlt die Prüfung des antimikrobiellen Agens nicht.

² CLSI und EUCAST empfehlen unterschiedliche Konzentrationen des antimikrobiellen Agens. Die EUCAST-Empfehlungen wurden befolgt.

³ Die Hemmzone des antimikrobiellen Agens liegt nicht innerhalb des empfohlenen EUCAST-Bereichs (Mueller-Hinton-II-Agar, 150 mm und Quadrat).

⁴ Die Hemmzone des antimikrobiellen Agens liegt nicht innerhalb des empfohlenen EUCAST-Bereichs (Mueller-Hinton-II-Agar, 90 mm).

⁵ Die Hemmzone des antimikrobiellen Agens liegt nicht innerhalb des empfohlenen EUCAST- und CLSI-Bereichs (Mueller-Hinton-II-Agar, 90 mm).

⁶ Die Hemmzone des antimikrobiellen Wirkstoffs liegt nicht innerhalb des empfohlenen CLSI-Bereichs (Mueller-Hinton-II-Agar, 90 mm und 150 mm), aber innerhalb des empfohlenen EUCAST-Bereichs.

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 Organismen/Antibiotika-Kombinationen hat die Hemmzone ggf. keinen deutlich abgegrenzten Rand, wodurch das Ergebnis falsch interpretiert werden kann.

Verschiedene Faktoren, welche die Empfindlichkeitsprüfungen durch Blättchendiffusion beeinträchtigen können, wurden identifiziert. Zu diesen Faktoren gehören Medium, Agartiefe, Blättchenwirksamkeit, Inokulumkonzentration, Alter des Inokulums und pH-Wert.³¹

Eine ungeeignete 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 dem Inokulum und den inokulierten Platten die CLSI- und EUCAST-Empfehlungen zu befolgen, um das potenzielle Risiko falscher Ergebnisse aufgrund unsachgemäßer Handhabung zu minimieren. Unsachgemäße Lagerung der Antibiotika-Blättchen kann zum Verlust der Wirksamkeit und zu falschen Resultaten bezüglich der Empfindlichkeit führen. Übermäßige Schrumpfung des Mediums als Folge von unsachgemäßer Lagerung kann zu falschen Resultaten bezüglich der Empfindlichkeit 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.^{10,11,32,33}

Bakterien, die Thymin oder Thymidin benötigen, können vorkommen.^{27,28} Diese Organismen könnten auf Mueller-Hinton-Agar mit niedrigem Thymin- oder Thymidingehalt nicht zufriedenstellend wachsen.

Neue Verfahren mit hochkonzentrierten Gentamycin- (120 mg) und Streptomycin-Blättchen (300 mg) wurden zur Überprüfung einer höheren Resistenz gegen Aminoglycoside entwickelt, als Anzeichen dafür, dass ein Enterokokken-Isolat durch eine Kombination aus einem Penicillin oder Glycopeptid und einem Aminoglycosid synergistisch nicht beeinträchtigt wird.^{7,28,29}

Eine vollständige Erörterung zum Nachweis von MRSA, resistenten Enterokokken, β -Lactamase-produzierenden, gramnegativen Bazillen mit erweitertem Spektrum und anderen Testeinschränkungen können Sie den CLSI-Dokumenten M2 und M7 und den EUCAST-Empfehlungen entnehmen.^{7,8,10,11,30}

Mueller-Hinton-II-Agar zeigte sich verlässlich für den Nachweis von MRSA, welche eine verschwommene Hemmzone um Oxacillin-Blättchen bilden.²⁶ Im Zweifelsfall sollte ein zusätzliches Verfahren, z. B. **BD Oxacillin Screen Agar**, verwendet werden.

Die Inokulationsmethode und Interpretation sowie die Empfehlungen und Grenzen der Zonengrößen in diesem Dokument und in den Empfehlungen der CLSI- und EUCAST-Richtlinien können sich von jenen in nationalen Richtlinien unterscheiden.^{7,8,31}

LITERATUR

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
2. Matuschek, E., D.F. Brown, and G. Kahlmeter. 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.
3. Ryan, K.J., F.D. Schoenkecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc sensitivity testing. *Hospital Practice* 5:91-100.
4. Barry, A.L., F. Garcia, and L.D. Thrupp. 1970. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. *Am. J. Clin. Pathol.* 53:149-158.
5. Mueller, J.H., and J. Hinton. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 48:330-333.
6. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl.* 217.
7. CLSI. Approved standard: M02-A12 - Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI, Wayne, PA, USA. *Search for latest version at www.clsi.org.*
8. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Search for latest version at <http://www.eucast.org>.*
9. Woods, G.L., and J.A. Washington. 1995. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods, p. 1327-1341. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.C. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
10. CLSI - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. *Search for latest version at www.clsi.org.*

11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. *Search for latest version at <http://www.eucast.org>*.
12. Thornsberry, C., T.L. Gavan, and E.H. Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society of Microbiology, Washington, DC.
13. Koch, A.E., and J.J. Burchall. 1971. Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. *Appl. Microbiol.* 22:812-817.
14. Ferone, R., S.R.M. Bushby, J.J. Burchall, W.D. Moore, and D. Smith. 1975. 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.* 7:91-98.
15. Reller, L.G., F.D. Schoenknecht, M.A. Kenny, and J.C. Sherris. 1974. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. *J. Infect. Dis.* 130:454-463.
16. Pollock, H.M., B.H. Minshew, M.A. Kenny, and F.D. Schoenknecht. 1978. Effect of different lots of Mueller-Hinton Agar on the interpretation of the gentamicin susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14:360-367.
17. D'Amato, R.F., and C. Thornsberry. 1979. Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. *Current Microbiol.* 2:135-138.
18. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. *Search for latest version at <http://www.eucast.org>*.
19. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 6.0, 2016. <http://www.eucast.org>.
20. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
21. Wegner, D.L., C.R. Mathis, and T.R. Neblett. 1976. Direct method to determine the antibiotic susceptibility of rapidly growing blood pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:861-862.
22. Johnson, J.E., and J.A. Washington II. 1976. Comparison of direct and standardized antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10:211-214.
23. Waterworth, P.M., and M. Del Piano. 1976. Dependability of sensitivity tests in primary culture. *J. Clin. Pathol.* 29:179-184.
24. Hollick, G.E., and J.A. Washington II. 1976. Comparison of direct and standardized disk diffusion susceptibility testing of urine cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:804-809.
25. Baker, C.N., C. Thornsberry, and R.W. Hawkinson. 1983. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. *J. Clin. Microbiol.* 17:450-457.
26. Hindler, J.A., and C.B. Anderbied. 1985. Effect of the source of Mueller-Hinton agar and resistance frequency on the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 21:205-210.
27. Maskell, R., O.A. Okubadejo, R.H. Payne, and L. Pead. 1977. Human infections with thymine-requiring bacteria. *J. Med. Microbiol.* 11:33-45.
28. Haltiner, R.C., P.C. Migneault, and R.G. Robertson. 1980. Incidence of thymidine-dependent enterococci detected on Mueller-Hinton agar with low thymidine content. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18:365-368.
29. Murray, B.E. 1990. The life and times of the *Enterococcus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 3:46-65.
30. CLSI. Approved standard: M7. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. CLSI, Wayne, PA, USA. *Search for latest version at www.clsi.org*.

31. Jorgensen, J.H., and J.D. Turnidge. 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
32. Washington, J.A., and G.L. Woods. 1995. Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. P. 1327-1341. *In* Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., and Tenover, R.H. (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1995.
33. Neumann, M.A., D.F. Sahn, C. Thornsberry, J.E. McGowan, 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.
34. Data on file. Becton Dickinson.
35. Skov, R., A.R. Larsen, A. Kearns, M. Holmes, C. Teale, G. Edwards, and R. Hill. Phenotypic detection of *mecC*-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacillin. 2014. J. Antimicrob. Chemother. 69:133-135.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Mueller Hinton II Agar (Stacker-Platten, 90 mm; [Standardgröße])

Best.- Nr. 254032 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten
 Best.- Nr. 254081 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 120 Platten

BD Mueller Hinton II Agar (150 mm)

Best.- Nr. 254062 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

BD Mueller Hinton II Agar, Square (120 x 120 mm)

Best.- Nr. 254518 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8-12
 69126 Heidelberg/Deutschland
 Tel.: +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/>

Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

© 2017 BD. BD, das BD Logo und alle anderen Marken sind Eigentum von Becton, Dickinson and Company.