

BD Sensi-Disc™ Testblättchen zur Empfindlichkeitsprüfung

VERWENDUNGSZWECK

Sensi-Disc™ Testblättchen sind zur halbquantitativen *In-vitro*-Empfindlichkeitsprüfung von häufig vorkommenden, schnell wachsenden und bestimmten anspruchsvollen bakteriellen Erregern mit Hilfe des Agar-Blättchen-Diffusionsverfahrens bestimmt. Zu diesen Erregern gehören *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*-Spezies, *Pseudomonas*-Spezies, *Acinetobacter*-Spezies, *Enterococcus*-Spezies, *Vibrio cholerae* und, mit abgewandelten Verfahren, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* und andere Streptokokken. **Sensi-Disc** Testblättchen, die mit Bacitracin, Oleandomycin, Novobiocin, und Polymyxin B imprägniert sind, werden nicht zur Bestimmung der Empfindlichkeit oder Resistenz der isolierten Stämme für Therapiezwecke verwendet, sondern zur Isolierung und/oder Differenzierung von Bakterienisolaten. **Sensi-Discs**, die mit Metronidazol beladen sind, wurden zur Überprüfung der Metronidazol-Empfindlichkeit mittels Blättchen-Elutionsmethode verwendet. Siehe Fußnoten in Tabelle 1.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Agar-Diffusionsverfahren unter Verwendung von getrockneten Filterpapierblättchen, die mit bestimmten Konzentrationen von antimikrobiellen Substanzen imprägniert wurden, wurden in den 40er Jahren entwickelt. Um die Testvariabilität zu minimieren oder auszuschalten entwickelten Bauer *et al.* ein Standardverfahren, bei dem Mueller Hinton-Agar als Testmedium verwendet wird.^{1,2}

Blättchen mit verschiedenen antimikrobiellen Substanzen werden auf die Oberfläche von Mueller-Hinton-Agarplatten (oder Haemophilus-Testmediumagar zum Nachweis von *H. influenzae*, GC II-Agar mit **IsoVitaleX**-Anreicherungsmedium für *N. gonorrhoeae* oder Mueller-Hinton-Agar mit 5 % Schafblut für *S. pneumoniae*, β -hämolyisierende Streptokokken und Streptokokken der *Viridans*-Gruppe) gebracht, die mit Reinkulturen klinischer Isolate beimpft wurden. Nach der Inkubation werden die Platten untersucht, die Hemmzonen um die Blättchen gemessen und dann mit festgelegten Hemmzonengrößen für einzelne antimikrobielle Substanzen verglichen, um die Substanzen zu bestimmen, die für eine Antibiotikatherapie am besten geeignet sind.

Mehrere Ausführungsbehörden und Organisationen zur Festlegung von Normen veröffentlichten Standard-Referenzverfahren auf der Grundlage der Bauer-Kirby-Methode. Zu den frühesten und gebräuchlichsten dieser Standardverfahren gehören die von der U.S. Food and Drug Administration (FDA)³ und der Weltgesundheitsorganisation (WHO)^{4,5} veröffentlichten Methoden. Die Verfahren wurden als Übereinkunfts-Standard vom National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) angenommen und werden regelmäßig auf den neuesten Stand gebracht.^{6,7} Für die aktuellen Empfehlungen wird auf das neueste NCCLS-Dokument verwiesen.

REAGENZIEN

Sensi-Disc-Testblättchen haben einen Durchmesser von 6 mm, die hergestellt werden, indem hochwertiges Filterpapier mit genau abgemessenen Mengen Antibiotika oder anderen chemotherapeutischen Substanzen imprägniert wird. Die Blättchen enthalten auf beiden Seiten eindeutig erkennbare Buchstaben und Ziffern zur Identifizierung der Substanz und zur Angabe der verwendeten Arzneimittelmenge. (Vgl. die Tabelle 1 bezüglich der Konzentrationen der reaktiven Bestandteile.) Die in den Blättchen enthaltene Arzneimittelmenge wird mit von der FDA festgelegten Methoden oder mit Methoden bestimmt, die denen im US-Bundesregister (United States *Federal Register*) ähnlich sind oder gleichen.³

Die **Sensi-Disc**-Produkte werden in Kartuschen mit jeweils 50 Blättchen geliefert. Das letzte Blättchen in jeder Kartusche ist mit einem "X" gekennzeichnet und enthält das laut Code angegebene Arzneimittel. Die Kartuschen werden in **BBL Sensi-Disc**-Dispensiergeräten verwendet; es sind dies ein 1-Blättchen-Dispensiergerät, ein 8-Blättchen-Dispensiergerät für Petrischalen von 90 mm und 6- bzw. 8-Blättchen-Dispensiergeräte mit automatischer Andruckvorrichtung für Petrischalen von 90 mm und ein 12-Blättchen-Dispensiergerät mit automatischer Andruckvorrichtung für Petrischalen von 150 mm.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD. Nur zum Gebrauch durch Fachpersonal.

Die Gebrauchsanleitung im Abschnitt **VERFAHREN** befolgen. Die Leistungsfähigkeit der Blättchen hängt nicht nur von der Substanzkonzentration auf den Blättchen, sondern auch von der Verwendung eines geeigneten Inokulums und geeigneter Kontrollkulturen, funktionsfähiger, vorgetesteter Platten, vorschriftsmäßiger Lagerungstemperatur und anderen Faktoren ab. Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Verwendung aseptischer Techniken erfolgen. Bezüglich aseptischer Arbeitsweise, Arbeitsverfahren, Biogefährdung und Entsorgung des verwendeten Produktes die **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANWEISUNG** befolgen.

AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

1. Blättchen nach Erhalt bei -20 bis +8 °C aufbewahren. Wird der Laborkühlschrank häufig geöffnet und geschlossen und die richtige Temperatur kann **nicht** aufrechterhalten werden, nur die für eine Woche ausreichende Menge Blättchen in diesem Kühlschrank lagern. Einige Blättchen (z.B. solche, die β -Lactame enthalten) sind vorzugsweise bei -20 °C tiefgekühlt aufzubewahren.

2. Behälter vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Nach dem Dispensieren die unbenutzten Blättchen wieder im Kühlschrank aufbewahren.

3. Die ältesten Blättchen zuerst verwenden.

4. Verfallene Blättchen entsorgen. Außerdem sollten Kartuschen, aus denen während einer Woche häufig Blättchen entnommen wurden sowie Blättchen, die über Nacht nicht im Kühlschrank aufbewahrt wurden, entsorgt werden. Zumindest sollten diese Blättchen vor einer weiteren Verwendung auf akzeptable Leistungsfähigkeit hin getestet werden.

5. Falls die Blättchen mit den empfohlenen Kontrollorganismen falsche Hemmzonen ergeben, muß das gesamte Verfahren überprüft werden. Die Ursache einer falschen Hemmzonengröße kann auf den Blättchen, der Inokulation, der Vorbereitung oder Tiefe (ungefähr 4 mm) des Mediums und anderen Faktoren beruhen.

Das angegebene Verfallsdatum gilt nur für in ungeöffneten Packungen aufbewahrte Blättchen und bei Beachtung der entsprechenden Lagervorschriften. Testblättchen aus geöffneten Behältern, die wie oben angegeben gelagert wurden, können so lange verwendet werden wie sie die richtigen Hemmhofgrößen mit den Qualitätskontrollstämmen erbringen.

QUALITÄTSKONTROLLE DURCH DEN ANWENDER⁶

Die Testblättchen sollten mindestens zweimal wöchentlich auf richtige Leistungsfähigkeit überprüft werden.

Zur Überprüfung des gesamten Testverfahrens müssen die Kontrollstämme *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (β -Lactamase-produzierender Stamm) und *E. faecalis* ATCC 29212 verwendet werden. *E. faecalis* ATCC 29212 (oder 33186) wird auch zur Überprüfung eines niedrigen Thymin- und Thymidingehalts in neuen Chargen von Mueller-Hinton-Agar empfohlen. Siehe **VERFAHREN – Testverfahren** zur Vorbereitung, Beimpfung, Bebrütung und Ablesung. Konsultieren Sie den NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) oder entsprechende nationale Standards bezüglich erwarteter Hemmhofdurchmesser der Qualitätskontrollstämmen.^{6,7}

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Sensi-Disc-Blättchen zur Empfindlichkeitsprüfung je nach Kennzeichnung.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Bakterienstämme zur Qualitätskontrolle und erforderliche Laborgeräte zur Durchführung einer Blättchen-Empfindlichkeitsprüfung mit dem Diffusionstest nach dem Standardverfahren. Einen 0,5-McFarland-Trübungsstandard herstellen, indem 0,5 mL 0,048 M BaCl₂ [1,175 % (Gew./Vol.) BaCl₂•2H₂O] zu 99,5 mL 0,18 M [0,36N] H₂SO₄ [1% (Vol./Vol.)] zugegeben werden. Den Trübungsstandard mit Hilfe eines Spektralphotometers mit Vergleichsküvette bei einer Schichtdicke von 1 cm überprüfen; die Extinktion bei 625 nm muß zwischen 0,08 und 0,10 liegen.

Probenarten

Normalerweise darf klinisches Material bei diesem Test nicht direkt verwendet werden. Stattdessen müssen Reinkulturen eingesetzt werden. Siehe **VERFAHREN – Testverfahren** zur Zubereitung des Inokulums. Falls möglich, sollten die Kulturen aus klinischem Material angelegt werden, das den Patienten vor Beginn einer Antibiotikatherapie entnommen wurde.

Testverfahren

1. Herstellung des Inokulums mit Test- und Kontrollkulturen:

- a. Eine Gramfärbung anfertigen. Nur Reinkulturen verwenden.
 - b. Drei bis fünf ähnliche Kolonien auswählen und mit Inokulationsnadel oder -öse in 4–5 mL einer geeigneten Bouillon wie z.B. **Trypticase**TM-Soja-Bouillon (oder Mueller-Hinton-Bouillon für anspruchsvolle Organismen) überführen.
 - c. Direkte Kolonie-Suspensionsmethode: Eine Bouillon- oder Kochsalzsuspension direkt mit Kolonien von einer Agarplatte, die über Nacht inkubiert wurde, herstellen (es sollte ein nichtselektives Medium wie Blutagar oder Schokoladenagar für *H. influenzae* und *N. gonorrhoeae* verwendet werden).
 - d. Suspension, falls nötig, verdünnen, bis die Trübung dem 0,5-McFarland-Trübungsstandard entspricht. Als Verdünnungsmittel wird sterile Bouillon oder Kochsalzlösung verwendet. Als Alternativmethode kann das Inokulum photometrisch standardisiert werden. Um die Einstellung des Inokulums von schnell wachsenden Organismen zu erleichtern, kann das Inokulationssystem **Prompt**TM (volumetrische Vorrichtung zur Zubereitung des Inokulums) verwendet werden.⁸
- Über Nacht aufbewahrte Bouillonkulturen sollten nicht als Inokulum verwendet werden.

2. Inokulation:

- a. Innerhalb von 15 min einen sterilen Wattetupfer in das korrekt eingestellte Inokulum tauchen und gegen die obere Innenwand des Röhrchens mehrmals fest hin und her drehen, um überschüssige Flüssigkeit auszudrücken.
 - b. Die gesamte Oberfläche einer Mueller-Hinton-Agarplatte (oder einer anderen geeigneten Agarplatte) dreimal ausstreichen, wobei die Platte zwischen jedem Ausstreichen um 60 Grad gedreht wird, um eine gleichmäßige Inokulation zu erzielen.
 - c. Der Deckel kann 3–5 min, aber nicht länger als 15 min geöffnet bleiben, damit eventuelle oberflächliche Feuchtigkeit vor dem Aufbringen der mit Arzneimittel imprägnierten Blättchen absorbiert wird.
3. Geeignete Blättchen auswählen (siehe Empfehlungen in Literaturangabe 7, Tabelle 1 und 1A M100-S15 [M2]).
 4. Die Blättchen unter Einhaltung aseptischer Vorsichtsmaßnahmen mit einem **Sensi-Disc** Dispensiergerät auflegen, und zwar so, daß die Blättchenzentren mindestens 24 mm voneinander entfernt sind. Penicillin- und Cephalosporin-Blättchen vorzugsweise mindestens 10 mm vom Rand der Petrischale und mit einem Abstand von mindestens 30 mm zwischen

- den Blättchenzentren auflegen. Diese Blättchen nicht nebeneinander plazieren. Bei *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* und *S. pneumoniae* nicht mehr als neun Blättchen pro 150-mm-Platte bzw. vier Blättchen pro 90-mm-Platte verwenden. Wurden die Blättchen nicht mit Dispensiergeräten mit automatischer Andrückvorrichtung auf dem Agar aufgelegt, Blättchen für guten Kontakt mit der Plattenoberfläche mit einer sterilen Nadel oder Pinzette andrücken.
5. Die Platten innerhalb von 15 min mit der Agarseite nach oben in einen Inkubator von 35 °C stellen. *Haemophilus*-Spezies, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und andere Streptokokken sollten in einer mit 5 % CO₂ angereicherten aeroben Atmosphäre inkubiert werden.
 6. Die Platten nach einer Inkubationszeit von 16–18 h (20–24 h für *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und andere Streptokokken) ablesen. Für *Staphylococcus*-Spezies wird die volle 24stündige Inkubationszeit empfohlen, um methicillin-/nafcillin-/oxacillinresistente Staphylokokken nachzuweisen; das gleiche gilt für den Nachweis von vancomycinresistenten *Enterococcus*-Spezies. Die Durchmesser der Hemmzonen, die bei visueller Überprüfung eine vollständige Hemmung aufweisen, werden gemessen. Die Zonendurchmesser werden auf den nächsten Millimeter gerundet. Weitere Einzelheiten zur Messung von Hemmzonen sind der Literatur zu entnehmen.⁶ Sind nur einzeln stehende Kolonien gewachsen, so war das Inokulum zu dünn, und der Test muß wiederholt werden. Hemmzonen um Blättchen mit verschiedenen Arzneimitteln können nicht zum Vergleich der Arzneimittelaktivität herangezogen werden.

Ergebnisse^{6,7}

Die empfohlenen Interpretationskriterien basieren auf gebräuchlichen Dosierungen und Applikationsarten in den USA. Eventuell müssen lokale Standards beachtet werden.

Die gemessenen Zonendurchmesser werden mit den Angaben im NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) oder nationalen Standards verglichen. Die Ergebnisse für einen spezifischen Stamm können als resistent, intermediär oder empfindlich bewertet werden. Für manche Kombinationen von Organismen und Antibiotika schließt die Abwesenheit von resistenten Stämmen die Festlegung von Ergebniskategorien mit Ausnahme von "Empfindlich" aus. Bei Stämmen mit Ergebnissen, die auf die Kategorie "Unempfindlich" hindeuten, sollten Organismus-Identifikations-Tests und antimikrobielle Empfindlichkeitstests bestätigt werden. Falls notwendig, ist normalerweise eine Verdünnungsmethode die am besten geeignete Testmethode, zu der ggf. der Organismus in ein Referenzlabor geschickt werden muß.⁷

Die Empfindlichkeit von *Pseudomonas aeruginosa*, die bei Patienten mit zystischer Fibrose isoliert wurden, läßt sich durch die Blättchenmethode zuverlässig ermitteln, kann aber eine verlängerte Inkubationszeit von bis zu 24 h erfordern, bevor das Ergebnis als empfindlich angegeben werden kann.

Aufgrund der Bildung von penicillinbindenden Proteinen (PBP) mit niedriger Affinität oder der Bildung von β -Lactamase können Enterokokken resistent gegen Penicillin und Ampicillin sein. Mit dem Blättchen-Diffusionstest können Isolate mit abweichenden penicillinbindenden Proteinen genau, aber β -Lactamase produzierende Stämme nur unzuverlässig nachgewiesen werden. Die letzteren Stämme werden am besten mit einem direkten β -Lactamase-Test nachgewiesen,⁶ z.B. mit **Cefinase**TM-Nitrocefin-Blättchen oder mit chromogenen Cephalosporin-Blättchen.

Für *Enterococcus*-Spezies können Cephalosporine, Aminoglykoside (außer für hochgradige Resistenz-Reihentests), Clindamycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol *In vitro* aktiv erscheinen, sind aber klinisch nicht wirksam und Isolate sollten nicht als empfindlich dokumentiert werden. Breitspektrum- β -Lactamasen (ESBL) sind von gramnegativen Bakterien produzierte Enzyme, die durch Mutation in Genen für normale plasmidvermittelte β -Lactamasen entstehen. Stämme von *Klebsiella*-Spezies und *E. coli*, die ESBL produzieren, sind möglicherweise trotz scheinbarer *In vitro*-Empfindlichkeit gegen einige dieser Substanzen therapieresistent gegen Penicilline, Cephalosporine oder Aztreonam. Manche dieser Stämme zeigen Hemmzonen unterhalb der normalen empfindlichen Population, jedoch oberhalb der normalen Grenzwerte für bestimmte Breitspektrum-Cephalosporine oder Aztreonam. Solche Stämme sollten unter Anwendung der ESBL-Grenzwerte auf potentielle ESBL-Produktion getestet werden, bevor Ergebnisse für

Penicilline, Breitspektrum-Cephalosporine oder Aztreonam angegeben werden. Andere Stämme erweisen sich gegebenenfalls im Test mit Hilfe der normalen Grenzwerte als intermediär oder resistent gegen eine oder mehrere dieser Substanzen. Bei allen ESBL-produzierenden Stämmen sollten die Zonendurchmesser für eines oder mehrere der Breitspektrum-Cephalosporine oder Aztreonam in Gegenwart von Clavulansäure im phänotypischen Bestätigungstest größer werden. Bei allen bestätigten ESBL-produzierenden Stämmen sollte die Testinterpretation als resistent gegen alle Penicilline, Cephalosporine und Aztreonam angegeben werden. Die Entscheidung, ob ESBL-Suchtests bei allen Urinisolaten durchgeführt werden, sollte auf laborinterner Basis getroffen werden, wobei Prävalenz-, Therapie- und Infektionskontrollaspekte zu berücksichtigen sind.⁷

Beim Nachweis von methicillinresistenten Staphylokokken ist es wahrscheinlich, daß eine Resistenz mit Oxacillin-Blättchen besser als mit Methicillin- oder Nafcillin-Blättchen festgestellt werden kann. Aus diesem Grund ist das 1-µg-Oxacillin-Blättchen beim Testen auf Methicillin/Oxacillin-Resistenz zu verwenden. Alle Oxacillin-Hemmzonen sollten sorgfältig mit durchscheinendem Licht untersucht werden, um kleine Kolonien oder eine dünne Wachstumsschicht der Bakterien innerhalb der Zone nach einer Inkubationszeit von 24 h feststellen zu können. Methicillinresistente Staphylokokken sind gewöhnlich gegen mehrere Antibiotikaklassen resistent, einschließlich Aminoglykoside, Macrolide, Clindamycin, Phenicol, Chinolone, Sulfonamide und Tetracyclin. Eine festgestellte Mehrfachresistenz sollte als Hinweis auf die Möglichkeit einer Methicillin-Resistenz gedeutet werden. Methicillinresistente *S. aureus*-Stämme, die gegen andere Antibiotikaklassen nicht resistent sind, wurden jedoch sowohl von stationären als auch ambulanten Patienten isoliert. Wenn der Blättchendiffusionstest bei einem potentiellen methicillinresistenten *Staphylococcus*-Stamm zweifelhaft ausfällt, sollten zusätzliche Bestätigungstests gemäß NCCLS-Dokument M7⁹ durchgeführt werden. Unabhängig von den mit den folgenden Substanzen erhaltenen *In-vitro*-Ergebnissen müssen methicillin/oxacillinresistente *S. aureus* (MRSA) sowie koagulasenegative Staphylokokken (MRS) als resistent gegen alle Penicilline, Cepheme, Carbapeneme und andere β -Lactame, wie z.B. Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin/Sulbactam, Ticarcillin/Clavulansäure, Piperacillin/Tazobactam und Imipenem, protokolliert oder gar nicht angegeben werden. Der Grund dafür ist, daß in den meisten Fällen dokumentierte Infektionen durch methicillinresistente Staphylokokken nur schlecht auf β -Lactam-Antibiotika angesprochen haben und bisher klinisch überzeugende Daten zur Dokumentation der klinischen Wirksamkeit eben genannter Substanzen fehlen.⁶ Staphylokokken-Isolate, die nachweislich das *mecA*-Gen tragen oder das *mecA*-Gen-Produkt PBP 2a produzieren, sollten als oxacillinresistent angegeben werden.

Die Interpretationskriterien für koagulasenegative Staphylokokken korrelieren mit dem Vorhandensein oder Fehlen des Methicillin-Resistenz-Gens (*mecA*) bei *S. epidermidis*. Diese Interpretationskriterien können bei Resistenz anderer koagulasenegativer Staphylokokken wie *S. lugdunensis* oder *S. saprophyticus* vorrangig sein. Bei schwerwiegenden Infektionen mit koagulasenegativen Staphylokokken außer *S. epidermidis* ist ein Test auf *mecA* oder das von *mecA* exprimierte penicillinbindende Protein 2a (PBP 2a oder PBP 2' bei Stämmen mit Zonendurchmessern im intermediären oder resistenten Bereich ggf. angebracht. Isolate, die *mecA* nachweislich nicht tragen oder das PBP 2a nicht produzieren, sollten als oxacillinempfindlich angegeben werden.

Es wurde berichtet, daß der Blättchenempfindlichkeitstest keine genaue Methode für die Bestimmung der Methicillin-(Oxacillin)-Empfindlichkeit bei koagulasenegativen Staphylokokken (d.h. *S. saprophyticus*) ist.¹⁰ Eine Routinetestung von *S. saprophyticus*-Urisolaten wird nicht empfohlen, da Infektionen auf Konzentrationen reagieren, die von den herkömmlicherweise zur Behandlung akuter, unkomplizierter Harnwegsinfektionen verwendeten Antibiotika (wie Nitrofurantoin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol oder ein Fluorchinolon) im Urin erzielt werden.

Bei *Haemophilus*-Spezies, *N. gonorrhoeae* und *Moraxella catarrhalis* kann ein β -Lactamase-Schnelltest (z.B. mit **Cefinase**-Blättchen) früher klinisch relevante Ergebnisse liefern als ein Blättchen-Diffusionstest. Ein β -Lactamase-Test ist auch der einzig zuverlässige Test zum

Nachweis von β -Lactamase-produzierenden *Enterococcus*-Spezies. Mit einem positiven β -Lactamase-Test kann Resistenz gegen Penicillin, Ampicillin und Amoxicillin bei *Haemophilus*-Spezies, *N. gonorrhoeae* und *M. catarrhalis* und Resistenz gegen Penicillin, einschließlich Acylamino-, Carboxyl- und Ureido-Penicilline bei Staphylokokken und Enterokokken vorausgesagt werden. Ein negativer β -Lactamase-Test schließt eine Resistenz aufgrund anderer Mechanismen nicht aus. *Enterobacteriaceae*- und *Pseudomonas*-Spezies und andere aerobe gramnegative Bakterien sollten nicht getestet werden, da die Ergebnisse keine sichere Vorhersage der Empfindlichkeit gegen die therapeutisch am häufigsten verwendeten β -Lactam-Antibiotika erlauben. Zum genauen Nachweis von β -Lactamase bei Staphylokokken ist u.U. eine Enzyminduktion und Inkubation eines Tests auf Nitrocefin-Basis bis zu 1 h erforderlich. Dies läßt sich leicht erreichen, indem Bakterien vom Rand der Hemmzone eines Oxacillin-Blättchens getestet werden. Auf die Erhaltung genauer Ergebnisse muß sorgfältig geachtet werden. Hierzu gehört das Testen bekannter positiver und negativer Kontrollstämme zur Zeit der Untersuchung von klinischen Isolaten.⁶

Von der U.S. Food and Drug Administration zugelassene Empfindlichkeitstests für Penicilline und andere β -Lactame zur Behandlung von Streptokokken der Gruppen A und B sind nicht uneingeschränkt für klinische Zwecke geeignet und müssen nicht routinemäßig durchgeführt werden, da wie bei Vancomycin resistente Stämme nicht bekannt sind. Einige Stämme von *S. agalactiae* können jedoch intermediäre Ergebnisse hinsichtlich Penicillin ergeben. Blättchen-Diffusionstests mit Ampicillin, Penicillin und Rifampin für *Neisseria meningitidis* sind unzuverlässig. Quantitative Testverfahren (MHK-Tests) sollten für diese Organismen benutzt werden.⁷

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Der hier beschriebene Test gilt hauptsächlich für schnell wachsende aerobe Erreger. Anspruchsvolle Bakterien, außer *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und anderen Streptokokken, sollten mit einem Verdünnungsverfahren getestet werden.⁹ Anaerobier müssen mit Spezialverfahren getestet werden.¹¹

Für *Campylobacter*-, *Corynebacterium*- und *Bacillus*-Arten liegen noch keine ausreichenden Daten über die Zuverlässigkeit des Agardiffusionstests vor, um diese Methode zu empfehlen. Die Einteilung in resistent, intermediär und empfindlich unterscheidet sich nur durch einen Millimeter, was innerhalb des normalen Laborfehlerbereichs liegt. Bei einigen Kulturen erhält man Hemmzonen im Grenzbereich, die von Tag zu Tag oder Labor zu Labor anders ausfallen können. Allerdings sind solche Kulturen relativ selten.

Zum Resistenznachweis bei Pneumokokken und Enterokokken müssen die vom NCCLS empfohlenen Methoden strikt befolgt werden.⁶

Unter Umständen werden derzeit andere als die in den Standards aufgeführten antimikrobiellen Substanzen verwendet. Die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung solcher Substanzen müssen auf der Grundlage der Anwesenheit oder des Fehlens einer definierten Hemmzone interpretiert werden. Außerdem müssen diese Ergebnisse solange als qualitativ angesehen werden, bis eine Hemmzoneninterpretation erarbeitet wurde. Alle Hemmzonen-durchmesser müssen schriftlich festgehalten werden.

ESBL-Bestätigungstests sind nur gültig, wenn die vier Blättchen (Cefotaxim, Cefotaxim/Clavulansäure, Ceftazidim, Ceftazidim/Clavulansäure) gleichzeitig eingesetzt werden. Ein einzelner Einsatz dieser Blättchen wird vom NCCLS nicht empfohlen.^{6,7}

Beimpfungsmethode, Interpretation und Hemmhofgrenzwerte der NCCLS-Standards können von den in nationalen Standards erwähnten Werten abweichen.^{6,12}

Sensi-Disc Vancomycin (254858) - WICHTIGER HINWEIS: Es ist nicht bekannt, ob Vancomycin-resistente *Staphylococcus aureus* (VRSA) mit diesem Produkt nachgewiesen werden können. Bei Empfindlichkeitstests von *S. aureus*-Isolaten, insbesondere Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA), sind zusätzliche Testmethoden gemäß den Empfehlungen der

Centers for Disease Control and Prevention, CDC (der US-amerikanischen Seuchenschutzbehörde) einzusetzen. Zu diesen Tests gehören nicht- automatisierte MHK-Methoden (z.B. Bouillon-Mikrodilution oder Agar-Dilution) und ein Vancomycin-Agar-Test (Hirn-Herz-Infusion-Agar mit 6 µg/ml Vancomycin). Für diese Tests ist eine volle 24-Std.-Inkubationsperiode erforderlich, um VRSA zu detektieren. Weitere Informationen erhalten Sie über die Website von CDC.

LITERATURHINWEISE

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. Ryan, K.J., F.D. Schoenknecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc sensitivity testing. *Hospital Practice* 5:91-100.
3. Federal Register. 1972. Rules and regulations. Antibiotic susceptibility discs. *Fed. Regist.* 37:20525-20529. Erratum, 38:2756, 1973.
4. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B. Suppl.* 217:1-90.
5. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1977. Technical report series 610. W.H.O., Geneva.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 8th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement, M100- S15., Wayne, PA.
8. 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.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard M7-A6. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
10. York, M.K., L. Gibbs, F. Chehab, and G.F. Brooks. 1996. Comparison of PCR detection of *mecA* with standard susceptibility testing methods to determine methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 34: 249-253.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved standard M11-A5. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 5th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
12. 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.*
13. Bannerman, T.L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically.* *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.*
14. Kilian, M. 2003. *Haemophilus.* *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.*
15. Mannheim, W. et al.: *Pasteurellaceae.* *In: Mikrobiologische Diagnostik (ed. F. Burkhardt). Thieme Verlag, Stuttgart 1992.*
16. Chapin, K., and G.V. Doern. 1983. Selective media for recovery of *Haemophilus influenzae* from species contaminated with upper respiratory tract microbial flora. *J. Clin. Microbiol.* 17:1163-1165.
17. Wilkins; T.D., and T. Thiel. 1973. Modified broth-disk method for testing the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 3: 350-356.
18. Zabransky, R.J., et al. 1986. Predicting the susceptibility of anaerobes to cefoperazone, cefotaxime, and ceftioxin with the thioglycollate broth-disk procedure. *J. Clin. Microbiol.* 24: 181-185.

PACKUNGSGRÖSSEN/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Sensi-Discs

In Glasröhrchen verpackt (mit Stopfen mit Trockenmittel verschlossen), 1 Kartusche pro Röhrchen. Verkaufseinheit: 10 Röhrchen

Siehe Tabelle 1 für die in Glasröhrchen gelieferten Produkte.

WEITERE INFORMATIONEN

Für weitere Informationen kontaktieren Sie die örtliche BD-Vertretung.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo, BBL, Cefinase, IsoVitaleX , Sensi-Disc and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

Prompt is a trademark of 3M.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company

Tabelle 1: **BD Sensi-Disc:** Übersicht über die in Glasröhrchen erhältlichen Produkte

REF	Beschreibung
254744	AMIKACIN AN-10
254703	AMIKACIN AN-30
254741	AMOXICILLIN AMX-25
254718	AMOXYCILLIN + CLAVULANSÄURE AMC-30
254727	AMPICILLIN AM-10
254739	AMPICILLIN AM-25
254873	AZITHROMYCIN AZM 15
254749	AZLOCILLIN AZ-30
254750	BACITRACIN B-10 *
254755	CEFACLOR CEC-30
254758	CEFADROXYL CFR-30
254734	CEFAZOLIN CZ-30
254893	CEFEPIM FEP-30
254715	CEFOPERAZON CFP-30
254713	CEFOTAXIM CTX-30
254762	CEFOTIAM CFT-30
254711	CEFOXITIN FOX-30
254760	CEFSULODIN CFS-30
254878	CEFTAZIDIM CAZ-30
254722	CEFTRIAxon CRO-30
254775	CEFUROXIM CXM-30
254732	CEPHALEXIN CN-30
254704	CEPHALOTHIN CF-30
254725	CHLORAMPHENICOL C-30
254724	CIPROFLOXACIN CIP-5
254733	CLINDAMYCIN CC-10
254752	CLINDAMYCIN CC-2
254766	COLISTIN CL-10
254780	DOXYCYCLIN D-30
254731	ERYTHROMYCIN E-15
254786	FOSFOMYCIN + GLUCOSE-6-PHOSPHAT FF-120
254788	FOSFOMYCIN + GLUCOSE-6-PHOSPHAT FF-502
254785	FUSIDINSÄURE FA-10
254726	GENTAMICIN GM-10
254797	IMIPENEM IPM-10
254799	KANAMYCIN K-30
254707	LINCOMYCIN L-15
254882	MEROPENEM MEM-10
254802	METRONIDAZOL MET-80**
254807	MEZLOCILLIN MZ-30
254730	NALIDIXINSÄURE NA-30
254808	NEOMYCIN N-30
254710	NETILMYCIN NET-30
254702	NITROFURANTOIN FM-300
254855	NITROFURANTOIN + SULFADIAZIN U
254719	NORFLOXACIN NOR-10

REF	Beschreibung
254881	NOVOBIOCIN NB-5 *
254720	OFLOXACIN OFX-10
254819	OFLOXACIN OFX-5
254821	OLEANDOMYCIN OL-15 *
254822	OXACILLIN OX-1
254823	OXACILLIN OX-5
254824	PENICILLIN G P-0.8
254708	PENICILLIN G P-10
254700	PIPEMIDSÄURE PI-20
254712	PIPERACILLIN PIP-100
254832	PIPERACILLIN PIP-30
254828	POLYMYXIN B PB-300*
254709	SULFAMETHOXAZOL SMZ
254729	SULFAMETHOXAZOL + TRIMETHOPRIM SXT
254728	TETRACYCLIN TE-30
254815	TOBRAMYCIN NN-10
254816	TOBRAMYCIN NN-30
254714	TRIMETHOPRIM TMP-5
254844	TRIPLE SULFA SSS-0.25
254858	VANCOMYCIN VA-30

Fußnoten zu Tabelle 1:

*Diese Sensi-Discs werden für verschiedene Isolierungs- und Identifizierungsverfahren verwendet. Sie werden nicht für die Empfindlichkeitsprüfung von Isolaten für therapeutische Zwecke verwendet.

254750 BACITRACIN B-10 und

254821 OLEANDOMYCIN OL-15:

Diese Testblättchen werden zur Isolierung von *Haemophilus influenzae* auf nichtselektiven Medien eingesetzt, z.B. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** oder **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**. Dazu wird ein Bacitracin- oder Oleandomycinblättchen in den Bereich des ersten Ausstrichs gelegt. Nach der Bebrütung kann *Haemophilus influenzae* aus dem Bereich des Hemmhofs isoliert werden, da er gegen Bacitracin und Oleandomycin resistent ist, während die meisten anderen Bakterien aus der Normalflora gegen die beiden Antibiotika empfindlich sind.¹³⁻¹⁵

254881 NOVOBIOCIN NB-5

Dieses Blättchen wird zur Differenzierung von Staphylokokken aufgrund der Novobiocinresistenz oder -empfindlichkeit verwendet. Dazu wird ein Agardiffusionstest auf Mueller Hinton II-Agar durchgeführt und 18-24 h bebrütet. Resistent: <16 mm; empfindlich: ≥16 mm. *Staphylococcus saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* und einige andere Arten sind resistent, während *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. schleiferi*, und verschiedene andere empfindlich sind.¹⁶

254828 POLYMYXIN B PB-300

Dieses Blättchen wird zur Differenzierung von Staphylokokken aufgrund der Polymyxinresistenz oder -empfindlichkeit verwendet (methode: siehe Novobiocin). Resistent: <10 mm; empfindlich: ≥ 10 mm. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus*, and *S. chromogenes* sind resistent)¹⁶ Das Blättchen wird auch bei verschiedenen anderen Identifizierungsverfahren eingesetzt.

254802 METRONIDAZOL MET-80

**Dieses Blättchen wurde zur Überprüfung der Metronidazolempfindlichkeit strikt anaerober Bakterien (z.B. *Bacteroides* spp.) mittels Blättchenelutionsmethode verwendet.^{17,18} Es wird darauf hingewiesen, dass diese Methode nicht mehr vom NCCLS empfohlen wird.¹¹ Außerdem dürfen strikte Anaerobier nicht mittels Agardiffusionsmethode getestet werden.