



M.I.C.Evaluator

Verwendungszweck

M.I.C.E ist ein System für die quantitative Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) eines Antibiotikums gegen einen Testorganismus. Der Oxoid M.I.C.E liefert einen Gradienten eines auf einen Plastikstreifen stabilisierten Antibiotikums mit 29 Abstufungen, um eine exakte MHK im Bereich von 256 µg/ml – 0,016 µg/ml zu geben (spezielle Streifen mit sehr hohen oder niedrigen Antibiotika-Gradienten sind ebenfalls erhältlich).

Testprinzip

Nach Auflegen des M.I.C.E-Streifens auf einen beimpften Nährboden beginnt die Freisetzung des Antibiotikums von dem Plastikstreifen, wodurch sich ein definierter Konzentrationsgradient im Bereich um den Streifen bildet. Nach der entsprechenden Inkubation des Tests wird sich - um den im Zentrum liegenden M.I.C.E-Streifen - eine Hemmzone ausgebildet haben. Anhand der graduierten Skala kann die MHK, der Punkt bei der das Wachstum des Testorganismus den M.I.C.E-Streifen berührt, leicht abgelesen werden.

Bestandteile

Die M.I.C.E-Streifen werden in individuell aufreißbaren Beuteln geliefert. Diese enthalten ein Trocknungsmittel, um die Stabilität des Antibiotikums auf dem Streifen zu gewährleisten. Es stehen eine Vielzahl von Packungsgrößen mit 10 und 50 Streifen eines einzelnen Antibiotikums oder anerkannte Kombinationen verschiedener Antibiotika zur Verfügung. Diese sind zusammen mit der Gebrauchsanleitung in einem festen Karton verpackt.

Zusätzliche benötigte Materialien, die jedoch nicht mitgeliefert werden

Petrischalen mit geeignetem Nährboden.

Inokulationsflüssigkeit zur Herstellung einer Keimsuspension.

Sterile Impfösen und Tupfer

Sterile Pinzetten.

McFarland-Trübungsstandard.

Brutschrank.

Gaserzeugende Systeme zur Erzeugung einer CO₂-angereicherten Atmosphäre sowie mikroaerophiler oder anaerober Bedingungen.

Qualitätskontrollstämmen.

Vorsichtsmaßnahmen

in vitro Diagnostikum. Nicht nach Ablauf des Verfallsdatum verwenden. Die Streifen sollten nicht verwendet werden, wenn sie Anzeichen eines Schadens zeigen – dies könnte einen ausreichenden Kontakt des Streifens mit dem Nährboden verhindern und so die Ausbildung des Gradienten beeinträchtigen. Das Produkt nicht

verwenden, wenn der Verschluß des Beutels defekt ist. Das Produkt enthält ein Antibiotikum – daher den Streifen nur an dem Ende, wo sich das Logo und der Antibiotika-Code befinden, anfassen.

Standardrichtlinien für die sichere Handhabung und für die Entsorgung infektiöser Organismen sollten während aller Arbeitsschritte beachtet werden.

Lagerung und Öffnen der Beutel

Die Beutel sollten so gelagert werden, daß sie nicht beschädigt oder verbogen werden. Die ungeöffneten Beutel bei 2 - 8°C lagern. Nach der Entnahme aus dem Beutel sollte der Streifen innerhalb von 15 Minuten verwendet werden. Anderenfalls sollte der Streifen in einer trockenen Umgebung und lichtgeschützt für maximal 24 Stunden zurück in den Kühlschrank gelegt werden – unbenutzte Streifen sollten nach diesem Zeitraum entsorgt werden. **Es wird empfohlen, die Beutel vor dem Öffnen auf Raumtemperatur zu bringen, damit sich kein Kondenswasser auf dem Streifen ansammeln kann, das den Gradienten zerstören könnte.** Die Beutel werden durch vorsichtiges Ziehen an den mit einem blauen Pfeil markierten Ecken geöffnet. Den M.I.C.E - Streifen nur an dem Ende anfassen, wo sich das Logo und der Antibiotika-Code befinden – NICHT DEN BEREICH DES ANTIBIOTIKAGRADIENTEN AUF DEM STREIFEN BERÜHREN.

Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, Qualitätskontrollstämme in regelmäßigen Abständen zu testen; entweder während der Testdurchführung oder entsprechend einschlägiger Richtlinien für antimikrobielle Empfindlichkeitstestung. Die Kontrollbereiche für verschiedene Antibiotika- / Organismuskombinationen sind in Tabelle 2 aufgeführt oder anderen geeigneten Richtlinien zu entnehmen. Wenn die MHK von einem Qualitätskontrollstamm gegen ein spezifisches Antibiotikum außerhalb des spezifizierten Bereichs liegt, sollten die Streifen nicht benutzt werden, bis die Ursache für den Fehler bestimmt wurde (Schichtdicke des Nährbodens, Dichte des Inokulums, Inkubationsbedingungen oder Schädigung des Streifens).

Methode

Nährboden

Gemäß Tabelle 1 den geeigneten Nährboden für den zu testenden Organismus auswählen. Alle Nährböden sollten mit einer Tiefe von 4 mm +/- 0,5 mm gegossen werden, und deren Eignung mittels passender Qualitätskontrollstämme getestet werden.

Inokulum

Die gewünschte Dichte des Inokulums entsprechend der Angaben in Tabelle 1 durch Emulgieren mehrerer Kolonien einer Reinkultur in einem geeignetem Suspensionsmedium herstellen und die Trübung gegen einen passenden McFarland–Standard vergleichen. Die Suspension sollte innerhalb 15 Minuten nach der Zubereitung verwendet werden. Einen sterilen Baumwolltupfer in die Suspension eintauchen und überschüssige Flüssigkeit durch Ausdrücken am Rand des Röhrchens entfernen. Die Platte mit dem Tupfer in wenigstens drei unterschiedliche Richtungen beimpfen. Dabei auf Gleichmäßigkeit achten, damit keine Lücken im aufgetragenen Inokulum verbleiben. Die Oberfläche des Agars soll vor dem Auftragen des M.I.C.E.-Streifens vollständig trocken sein, jedoch sollte der Streifen innerhalb von 15 Minuten nach der Beimpfung aufgebracht werden, um ein vorzeitiges Wachstum des Organismus zu vermeiden.

Auflegen des M.I.C.E

Mittels einer sterilen Pinzette einen M.I.C.E-Streifen an dem Ende mit dem Logo und der Antibiotika-Abkürzung aus dem Beutel entnehmen. Den Streifen mit der Skala nach oben, und dem Antibiotikagradienten nach unten in Kontakt zum Agar auflegen. Dabei den Streifen mit dem Ende mit der geringen Konzentration auf die Platte zuerst auflegen und dann den Streifen sorgfältig über den Agar rollen, um einen guten Kontakt über die gesamte Länge des M.I.C.E.-Streifens auf dem Agar zu erhalten. Wenn Luftblasen unter dem Streifen eingeschlossen sind, diese vorsichtig an den Rand mit einer sterilen Pinzette schieben, dabei aber den Streifen nicht bewegen. Wenn der M.I.C.E-Streifen in einer inkorrekten Position liegt, DEN STREIFEN NICHT BEWEGEN, da das Antibiotikum sofort in den Agar abgegeben wird. Es wird empfohlen, nicht mehr als zwei M.I.C.E-Streifen auf eine 90 mm-Platte aufzulegen, und nicht mehr als sechs Streifen auf eine 140 mm-Platte. Wenn die Streifen auf den Agar aufgebracht sind, sollten diese umgehend bei geeigneten Bedingungen bebrütet werden, um eine vorzeitige Diffusion des Antibiotikums zu vermeiden.

Inkubation

Die Platten sollten in umgedrehter Position unter den für den Organismus in Tabelle 1 angegebenen Bedingungen bebrütet werden.

Interpretation der Ergebnisse

Die MHK entspricht dem Wert in dem Kasten, bei dem der Wachstumsrand des Organismus den Streifen berührt. Berührt der Wachstumsrand den Streifen an einer Linie zwischen zwei Kästen, wird der niedere Wert der MHK angegeben. Zeigt sich über die ganze Länge des Streifens Wachstum (keine Hemmung), wird die MHK mit größer als der höchste Wert auf dem M.I.C.E. angegeben. Wird eine so große Inhibitionszone erhalten, dass der Wachstumsrand nicht dem M.I.C.E. berührt, wird die MHK mit kleiner als der niedrigste Wert auf dem Streifen angegeben.

Detaillierte Informationen bezüglich der Interpretation von Wachstumsmuster sind erhältlich unter www.oxoid.com.

Leistungsmerkmale

Die Leistungsmerkmale, die in internen Untersuchungen ermittelt wurden, sind in Tabelle 3 dargestellt.

Testbeschränkungen

Die M.I.C.E-Ergebnisse sind *in vitro*-Ergebnisse und können daher nur einen Hinweis auf die *in vivo*-Empfindlichkeit des Testorganismus geben. Die Entscheidung, ein Antibiotikum für die Therapie gegen den Testorganismus einzusetzen, liegt in der Verantwortung des Klinikers, der andere Faktoren, die die *in vivo*-Aktivität der Substanz beeinflussen könnten, berücksichtigen muß.

Organismus	Mueller-Hinton Agar Methode					
	Medium	McFarland	Atmosphäre	Temperatur	Zeit	Ausnahmen
Staphylokokken	MH	0.5	O ₂	35 - 37°C	16-18 h	Vancomycin-Tests nach 24 h ablesen Oxacillin-Testung MH +2% NaCl für 24h bei 35°C
Enterokokken	MH	0.5	O ₂	35 - 37°C	16-18 h	HLAR nach 48 h bestätigen
Enterobacteriaceae	MH	0.5	O ₂	35 - 37°C	16-18 h	48 h für langsam wachsende Organismen
Pseudomonas	MH	0.5	O ₂	35 - 37°C	16-18 h	48 h für langsam wachsende Organismen
β haemolytische Streptokokken	MH+5% SB	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	16-18 h	
α haemolytische Streptokokken	MH+5% SB	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	20-24 h	
Haemophilus	HTM	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	18-20 h	
Neisseria gonorrhoeae	GC	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	20-24 h	
Neisseria meningitidis	MH+5% SB	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	20-24 h	
Anaerobier	BBA	1	anaerob	35 - 37°C	24-72 h	
Moraxella	MH+5% SB	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	18-24 h	
Listeria	MH+5% SB	0.5	O ₂	35 - 37°C	18-24 h	48 h für langsam wachsende Organismen
Campylobacter	MH+5% SB	0.5	microaerophil	35 - 37°C	48 h	

Organismus	Iso-Sensitest Agar Methode					
	Medium	McFarland	Atmosphäre	Temperatur	Zeit	Ausnahmen
Staphylokokken	ISA	0.5	O ₂	35 - 37°C	18-20 h	Vancomycin-Tests nach 24 h ablesen
	MH+2%NaCl	0.5	O ₂	35 °C	24 h	Für den Nachweis der Methicillin-Resistenz
Enterokokken	ISA	0.5	O ₂	35 - 37°C	24 h	HLAR nach 48 h bestätigen
Enterobacteriaceae	ISA	0.5	O ₂	35 - 37°C	18-20 h	48 h für langsam wachsende Organismen
Pseudomonas	ISA	0.5	O ₂	35 - 37°C	18-20 h	48 h für langsam wachsende Organismen
β haemolytische Streptokokken	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	O ₂	35 - 37°C	18-20 h	
α haemolytische Streptokokken	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	18-20 h	
Haemophilus	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	18-20 h	
Neisseria gonorrhoeae	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	18-20 h	
Neisseria meningitidis	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	5% CO ₂	35 - 37°C	18-20 h	
Anaerobier	WC+5%DHB	1	anaerob	35 - 37°C	18-24 h	
Moraxella	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	O ₂	35 - 37°C	18-20 h	
Campylobacter	ISA+5%DHB+ 20mg/l NAD	0.5	microaerophil	42°C	18-24 h	<i>Campylobacter fetus</i> bei 35 - 37°C inkubieren

Tabelle 1

MH – Mueller-Hinton-Agar (CM0337)

ISA – Iso-Sensitest-Agar (CM0471)

HTM – Haemophilus-Test-Medium (CM0898 und SR0158)

GC – GO-Agar-Basis (CM0367 und SR0090)

BBA – Brucella-Blut-Agar

WC – Wilkens Chalgren Anaerobic Agar (CM0619)

0.5 McFarland – (20410)

1 McFarland – (20411)

DHB – Defibriertes Pferdeblut

SB - Schafblut

NAD - β -Nicotinamid-Adenindinucleotid

Antibiotikum	S. aureus ATCC 29213	E. coli ATCC 25922	P. aeruginosa ATCC 27853	E. coli ATCC 35218	E. faecalis ATCC 29212	S. pneumoniae ATCC 49619	B. fragilis NCTC 9343
Amoxycillin	0.25-1	4-16	-	-	-	0.03-0.12	16-64
Amoxycillin/ Clavulansäure	0.125-0.5	2-8	-	4-16	0.25-1	0.03-0.12	0.25-1
Ampicillin	0.5-2	2-8	-	-	0.5-2	0.06-0.25	16-64
Cefotaxim	1-4	0.03-0.12	8-32	-	-	0.03-0.12	2-8
Ciprofloxacin	0.12-0.5	0.004-0.015	0.25-1	-	0.25-2	-	1-4
Erythromycin	0.25-1	-	-	-	1-4	0.03-0.12	0.5-2
Gentamicin	0.12-1	0.25-1	0.5-2	-	4-16	-	64-256
Imipenem	0.015-0.06	0.06-0.25	1-4	-	0.5-2	-	0.03-0.12
Levofloxacin	0.06-0.5	0.008-0.06	0.5-4	-	0.25-2	0.5-2	0.25-1
Metronidazol	-	-	-	-	-	-	0.25-1
Oxacillin	0.12-0.5	-	-	-	8-32	-	-
Penicillin	0.25-2	-	-	-	1-4	0.25-1	8-32
Linezolid	1-4	-	-	-	1-4	0.5-2	-
Tetracyclin	0.12-1	0.5-2	8-32	-	8-32	0.12-0.5	0.25-1
Vancomycin	0.5-2	-	-	-	1-4	0.12-0.5	8-32

Tabelle 2 Empfehlungen für die Qualitätskontrolle

Antibiotikum	% Sensitivität	Antibiotikum	% Sensitivität
Penicillin	Staphylokokken	Amoxycillin	Staphylokokken
	Streptokokken		Streptokokken
	Neisseria		Neisseria
	Anaerobier		Haemophilus
Vancomycin	Staphylokokken	Linezolid	Staphylokokken
	Streptokokken/Enterokokken		Streptokokken/Enterokokken
	Anaerobier		Anaerobier
Ciprofloxacin	Enterobacteriaceae	Oxacillin	Staphylokokken
	Staphylokokken		Streptokokken
	Streptokokken	Cefotaxim	Enterobacteriaceae
	Neisseria/Haemophilus		Staphylokokken
Gentamicin	Enterobacteriaceae	Erythromycin	Staphylokokken
	Staphylokokken		Streptokokken
	Enterokokken		Haemophilus
Imipenem	Enterobacteriaceae	Levofloxacin	Enterobacteriaceae
	Staphylokokken		Staphylokokken
	Streptokokken		Streptokokken
	Anaerobier		Neisseria/Haemophilus
Amoxycillin/ Clavulansäure	Enterobacteriaceae	Ampicillin	Enterobacteriaceae
	Staphylokokken		Staphylokokken
	Streptokokken		Streptokokken
	Haemophilus		Haemophilus
Tetracyclin	Staphylokokken		
	Streptokokken		
	Neisseria/Haemophilus		

Tabelle 3: Performance Daten

Weitere Informationen sind auf der Internetseite von Oxoid erhältlich.

H:/Market/dt. Prod.-Beschreibungen/AST/MICE

Oxoid GmbH

Postfach 10 07 53 • D-46467 Wesel - Am Lippeglacis 4-8 • 46483 Wesel
Telefon Service-Center (0281)152-233 • Fax (0281)152-214