

halbsynthetischen Nährböden zu erhalten, in dem die nicht definierten Komponenten auf ein Minimum beschränkt sind. Die meisten Mikroorganismen wachsen ohne weitere Supplementierung.

Der Nährboden wurde entwickelt, um den von vielen Autoren²⁻⁸ vorgebrachten Einwänden gegen Mueller-Hinton-Nährböden Rechnung zu tragen. Die Einwände beziehen sich u.a. auf folgende Punkte:

- unterschiedliche MHK-Werte bei Mueller-Hinton-Agar und Mueller-Hinton-Bouillon;
- antagonistische Effekte verschiedener Agar-Chargen im Mueller-Hinton-Agar gegenüber Tetracyclin;
- hohe Konzentrationen von Sulfonamid- und Trimethoprim-Antagonisten;
- unzureichende Reproduzierbarkeit bei der Herstellung von Peptonen und der Verwendung von Peptonen verschiedener Hersteller;
- mangelhaftes Wachstum von Streptokokken und allgemein variables Wachstum bei grampositiven Keimen.

Iso-Sensitest-Agar

Art.-Nr. CM 471

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Casein-Hydrolysat	11,0
Peptone	3,0
Glucose	2,0
Natriumchlorid	3,0
Stärke	1,0
Dinatriumhydrogenphosphat	2,0
Natriumacetat	1,0
Magnesiumglycerophosphat	0,2
Calciumgluconat	0,1
Kobalt(II)-sulfat	0,001
Kupfer(II)-sulfat	0,001
Zinksulfat	0,001
Eisen(II)-sulfat	0,001
Mangan(II)-chlorid	0,002
Menadion (Vitamin K ₃)	0,001
Cyanocobalamin (Vitamin B ₁₂)	0,001
L-Cystein	0,02
L-Tryptophan	0,02
Pyridoxin (Vitamin B ₆)	0,003
Pantothenat	0,003
Nicotinamid	0,003
Biotin	0,0003
Thiamin	0,00004
Adenin	0,01
Guanin	0,01
Xanthin	0,01
Uracil	0,01
Agar	8,0
pH 7,4 ± 0,2	

Zubereitung

31,4 g Iso-Sensitest-Agar in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren.

Beschreibung

Der Iso-Sensitest-Agar wurde speziell für die Empfindlichkeitsprüfung entwickelt. Die Zusammensetzung wurde sorgfältig ausgewählt, um einen reproduzierbaren,

Iso-Sensitest-Agar wurde aus dem Sensitest-Agar entwickelt, der weltweit erfolgreich in verschiedenen Laborkulturen eingesetzt wurde⁹⁻¹¹.

Einige mutierte Stämme, die völlig Thymin- und Thymidin-abhängig sind, wachsen auf dem OXOID Iso-Sensitest-Agar nicht. Der Nährboden enthält diese beiden Komponenten nur in sehr geringen Konzentrationen, da sie natürliche Antagonisten von Trimethoprim sind. Diese Thymin- und Thymidin-abhängigen Stämme müssen sorgfältig identifiziert werden¹²⁻¹⁴.

Mehrere Autoren untersuchten die Rolle von Metallionen als Antagonisten bestimmter Antibiotika¹⁵⁻²⁰ und stellten fest, daß ein genau festgelegter Mineralsalzgehalt in Nährböden für die Empfindlichkeitsprüfung wichtig ist. Reller et al.⁴ zeigten, daß ein Teil der Kationen in normalen Agarsorten enthalten ist und so in die Nährböden gelangt. Auch der zwischen Agarnährboden und Flüssignährboden festgestellte beträchtliche Unterschied im Mineralsalzgehalt bestätigte diesen Befund. Nur durch die Verwendung einer besonders gereinigten Agarsorte, bei der freie Anionen und Kationen entfernt werden, kann ein Nährboden mit einem genau festgelegtem Gehalt an Mineralsalzen erzielt werden. OXOID Iso-Sensitest-Agar besitzt einen solchen stabilen, festgelegten Gehalt an Mineralsalzen, so daß optimale und reproduzierbare antimikrobielle Hemmhöfe entstehen können. Die Amino-Stickstoff-Basis des säurehydrolysierten Caseins und die speziellen Peptone wurden in diesem Nährboden mit definierten Wachstumsfaktoren supplementiert. Die sorgfältige Zubereitung der Nährstoffe gewährleistet, daß die Antagonisten von Trimethoprim und Sulfonamid nur in sehr geringem Maß vorhanden sind.

Die meisten offiziellen nationalen Institutionen empfehlen die Mueller-Hinton-Nährböden für die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung mikrobieller Krankheitserreger. Durch die zitierten Arbeiten ist aber experimentell belegt, daß die Iso-Sensitest-Nährböden durch ihre ausgewogene Zusammensetzung eine bessere Reproduzierbarkeit und damit höhere Leistungsfähigkeit zeigen und deshalb sehr empfohlen werden können.

Zusätzliche Nährstoffe für nährstoffabhängige Keime

Einige Mikroorganismen können nährstoffabhängig sein, da sie spezielle Wachstumsfaktoren nicht selbst bilden können, z.B. Streptokokken, Neisserien, Haemophilus, Campylobacter. Andere können durch Mutation bedingte, abnorme Charakteristika zeigen, z.B. sehr kleine Koloniebildung bei *Staphylococcus aureus* oder bei Thymidin-abhängigen *Escherichia coli*.

Zum Iso-Sensitest-Agar können weitere Nährstoffe zugefügt werden, um das Wachstum dieser Keime zu verbessern²¹:

Neisseria, *Streptococcus* spp.:

Lysiertes Blut (5%, v/v)

Haemophilus spp.:

Fildes-Extrakt (5%, v/v, OXOID Art.-Nr. SR 46)

Staphylococcus aureus und coliforme Keime, die sehr kleine Kolonien bilden:

Menadion (Vitamin K₃, 0,5 µg/ml), Pyridoxin (1 µg/ml)

Symbiotische Streptokokken:

Pyridoxin (1 µg/ml)

Bestimmte Supplemente beeinflussen die antimikrobielle Aktivität bestimmter Substanzen. Es sollten deshalb Tests durchgeführt werden, um diesen Einfluß zu messen. Einige Beispiele sind im folgenden aufgeführt:

Thymidin:

Trimethoprim

Blut:

Sulfonamide, Trimethoprim, Aminoglycoside

CO₂:

Aminoglycoside, Erythromycin, Lincomycin, Tetracyclin, Novobiocin

Cystein und andere '-SH'-Komponenten:

Aminoglycoside

Vitox, Isovitalex:

Aminoglycoside, Sulfonamide, Trimethoprim

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Streptococcus pneumoniae ATCC 6303

(mit Blut-Zusatz)

Neisseria meningitidis ATCC 13090

(ohne Blut-Zusatz)

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Negativkontrolle

unbeimpfter Nährboden

Zusätzliche Hinweise

Bei der Empfindlichkeitsprüfung von Sulfonamid und Trimethoprim ist ein Zusatz von lysiertem Pferdeblut nicht notwendig.

Literatur

1. DIN 58940: "Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika".

2. Ericsson, H.M. und Sherris, J.C. (1971) Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 217, 1-90.
3. Garrod, L.P. und Waterworth, P.M. (1971) J. Clin. Pathol. 24, 779-789.
4. Reller, L.B. et al. (1974) J. Infect. Dis. 130, 454-463.
5. Duncan, I.B.R. (1974) Antimicrob. Agents and Chemotherapy 5, 9-15.
6. Yourassowsky, E., Vanderlinden, M.P. und Schoutens, E. (1974) J. Clin. Pathol. 27, 897-901.
7. Neussel, H. (1976) Chemotherapy 2, 33-40.
8. Bridson, E.Y. (1976) Ärztl. Lab. 22, 373-376.
9. Reynolds, A.V., Hamilton-Miller, J.M.T. und Brumfitt, W. (1974) Brit. Med. J II, 778.
10. Stewart, Sheila M., Anderson, Isobel M.E. und Malcolm, Margaret G.G. (1975) J. Clin. Pathol. 28, 195-197.
11. Bell, S.M. (1975) Pathology 7, Suppl., 1-48.
12. Tanner, E.I. und Bullin, C.H. (1974) J. Clin. Pathol. 27, 565-568.
13. Thomas, M. und Bond, L. (1973) Med. Lab. Technol. 30, 277-279.
14. Barker, J., Healing, D. und Hutchinson, J.G.P. (1972) J. Clin. Pathol. 25, 1086-1088.
15. Garrod, L.P. und Waterworth, P.M. (1969) J. Clin. Pathol. 22, 534-538.
16. Gilbert, D.N. et al. (1971) J. Infect. Dis. 124, (Suppl.) 37-45.
17. Zimelis, V.M. und Jackson, G.G. (1973) J. Infect. Dis. 127, 663-669.
18. Davis, S.D., lanetta, A. und Wedgewood, R.J. (1971) J. Infect. Dis. 124, 610-612.
19. Brenner, V.C. und Sherris, J.C. (1972) Antimicrob. Agents Chemother. 1, 116-122.
20. Traub, W.H. (1970) Appl. Microbiol. 20, 98-102.
21. Acar, J.F. (1980) "Antibiotics in Laboratory Medicine." Lorian, V. (Hrsg.) Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 48-51.