Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 119 (1977)

Heft: 2

Artikel: Vorschlag für ein standardisiertes Verfahren zur Bestimmung der Antibiotikaresistenz im Routinelabor

Autor: Müller, R. / Meyer, B.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-589698

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.10.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Schweizer Archiv für Tierheilkunde

Herausgegeben von der Gesellschaft Schweizerischer Tierärzte

Band 119 . Heft 2 . Februar 1977

Schweiz. Arch. Tierheilk. *119*, 45–56, 1977

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie der Haustiere mit Ambulatorium, Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold)
und aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut, Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. E. Hess)

Vorschlag für ein standardisiertes Verfahren zur Bestimmung der Antibiotikaresistenz im Routinelabor

von R. Müller und B. Meyer[1]

1. Einleitung

Obschon für die Mastitis-Therapie heute relativ wirksame Medikamente in Form der verschiedensten Antibiotika zur Verfügung stehen, sind die Erfolge, die damit erzielt werden, oftmals unbefriedigend. Diese Misserfolge sind auf verschiedene Ursachen zurückzuführen. Zum einen bilden in vielen Fällen Mängel in bezug auf Melkhygiene und Melktechnik die eigentliche Ursache der Mastitis. Zum andern ist ein nicht unerheblicher Teil der Therapieversager auf pathologisch-anatomische Veränderungen im Euter zurückzuführen, die das Erreichen eines antibakteriell wirksamen Spiegels am Orte der Infektion verunmöglichen. Zum dritten kommt auch der Resistenz der Mastitiserreger immer grössere Bedeutung zu. Es konnte in diesem Zusammenhang gezeigt werden, dass zwischen dem Therapieerfolg und der Resistenz der Erreger eine wechselseitige Beziehung besteht [7], und es wird denn auch von verschiedenen Seiten die Kenntnis der Antibiotikaresistenz der jeweiligen Mastitiserreger als Voraussetzung für eine sinnvolle Therapie angesehen [14]. Aus diesem Grunde werden heute praktisch in allen diagnostischen Laboratorien routinemässige Resistenzbestimmungen an Mastitiserregern durchgeführt. Aus einem solchen Antibiogramm kann und soll keine Garantie über den Verlauf der klinischen Heilung abgeleitet werden, es soll aber die wichtige Aussage ermöglichen, ob die Voraussetzungen für den therapeutischen Einsatz eines bestimmten Antibiotikums überhaupt erfüllt sind.

Unter Berücksichtigung des geringen materiellen und zeitlichen Aufwandes bietet sich für die Routineuntersuchung der Agardiffusionstest in seinen verschiedenen Variationen als Methode der Wahl an. Kriterium für die Beurteilung als «sensibel» oder «resistent» ist dabei die Grösse des entstehenden Hemm-

[1] Adresse: Winterthurerstrasse 260, CH–8057 Zürich.

hofes. Eine solche Unterteilung in empfindliche und resistente Bakterienstämme aufgrund der im Diffusionstest ermittelten Hemmhöfe ist jedoch nicht unproblematisch, da die Durchmesser der Hemmhöfe durch zahlreiche Faktoren beeinflusst werden. Die wichtigsten davon sind folgende [2]:

- Erreger
- Einsaatdichte
- Chemisch-physikalische Eigenschaften des Agars
- Agar-Schichtdicke
- Vordiffusionszeit
- Chemisch-physikalische Eigenschaften der verschiedenen Antibiotika
- pH-Optimum der Antibiotika
- Konzentration des Antibiotikums in den Blättchen
- Inaktivierung des Antibiotikums während der Lagerung und Bebrütung

Obwohl diese Liste noch unvollständig ist, kann daraus gefolgert werden, dass sich Resultate, die in verschiedenen Laboratorien festgestellt wurden, nur sehr bedingt miteinander vergleichen lassen. Trotz grosser Anstrengungen ist es bis heute nicht gelungen, die Methodik bezüglich dieser Punkte zu vereinheitlichen. Die von den verschiedenen Untersuchern gemachten Angaben über das Ausmass der Antibiotikaresistenz variieren denn auch in weitesten Grenzen [1, 3, 4, 5, 6, 7, 14]. Diese Differenzen sind jedoch nur zum Teil der unterschiedlichen Testmethodik zuzuschreiben. Bedeutender dürfte das Fehlen eines objektiven Kriteriums für die Unterteilung von antibiotikaempfindlichen und antibiotikaresistenten Erregern ins Gewicht fallen, denn ein Hemmhof von einer bestimmten Grösse wird trotz identischer Testmethodik nicht von allen Untersuchern gleich interpretiert. Die Angaben über die Grenzkonzentration eines Antibiotikums, welche für die Einstufung eines Erregers in die Kategorie empfindlich bzw. resistent zugrunde zu legen ist, variieren um 2–3 Zehnerpotenzen.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit konnten Müller und Berchtold [8] zeigen, dass durch das Aufzeichnen der Hemmhofgrössen in Form von Häufigkeitsverteilungen bei den einzelnen Erregern ein empfindlicher und ein resistenter Anteil innerhalb einer Erregerart objektiv unterschieden werden kann. Gleichzeitig ist es ihnen mit dieser Art der Auswertung gelungen, die kritische Hemmhofgrösse für die Unterteilung in resistente und empfindliche Stämme genau festzulegen. Ziel der vorliegenden Untersuchung war, mit der von ihnen beschriebenen Methode den Agar-Diffusionstest in verschiedenen Variationen zu analysieren und abzuklären, inwieweit diese Art der Auswertung für eine Standardisierung geeignet ist.

2. Material und Methodik

Alle auf ihre Antibiotikaempfindlichkeit geprüften Erreger wurden mittels gebräuchlicher Verfahren aus Viertelsgemelksproben isoliert.

Kriterien für die Klassifizierung waren:

Sc. agalactiae: CAMP+, Aesculin –

Staphylokokken: DNA-ase +
Coliforme: Laktosevergärung auf der Bromthymolblauplatte

Da es auch unter optimalen Bedingungen für die Milchprobenentnahme nicht immer möglich ist, mit Sicherheit zu sagen, ob den isolierten Erregern eine pathogene Bedeutung zuzumessen ist, wurden nur Stämme aus Milchproben mit abnorm erhöhtem Zellgehalt berücksichtigt. Die Erreger mussten zudem massenhaft und in Reinkultur gewachsen sein.

Für die Sensibilitätsbestimmung wurden Agar-Diffusionsverfahren verwendet. Dabei kam sowohl die Blättchenmethode als auch der Lochtest zur Anwendung.

Da die bei uns verwendete Blättchenmethode bereits in einer früheren Arbeit in allen Einzelheiten beschrieben wurde [7], soll hier nur die Methodik des Lochtestes kurz erläutert werden.

Aus einer D.S.T.-Agarplatte wird im Zentrum ein Loch ausgestanzt. Am Rande der Platte wird ein Tropfen der zu testenden Erregersuspension aufgebracht und in einem radiären Impfstrich gegen das zentrale Loch ausgestrichen. Nach kurzem Antrocknen der ausgestrichenen Suspension wird die Antibiotikumlösung in das zentrale Loch pipettiert. Anschliessend wird die Platte während 12–18 Stunden bei 37° C bebrütet. Je nach Empfindlichkeit wächst der Erreger auf dem Impfstrich mehr oder weniger nahe an das zentrale Loch heran (Abb. 1).

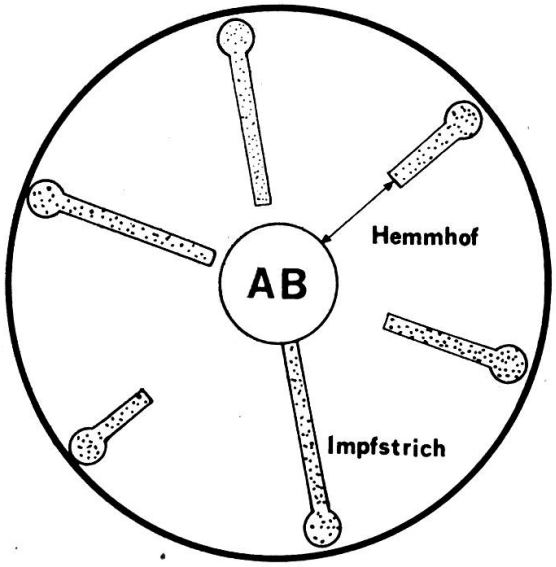

Abb. 1 Schematische Darstellung des Lochtestes zur Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit.

Kriterium für die Empfindlichkeit ist die Distanz von der Lochperipherie bis zum sichtbaren Wachstum des Erregers.

Auf diese Weise können pro Platte 8–12 verschiedene Erreger auf ihre Empfindlichkeit gegenüber einem bestimmten Antibiotikum geprüft werden.

Diese Methode ist besonders gut geeignet für Fälle, wo nur die Empfindlichkeit gegenüber einem einzelnen Antibiotikum geprüft werden soll, z.B. Staphylokokken–Penicillin G.

Alle Hemmhöfe wurden mit dem Massstab gemessen und in Form von Häufigkeitsverteilungen aufgezeichnet.

3. Resultate

In einem ersten Durchgang wurden 100 Stämme von Staphylococcus aureus mit der Blättchenmethode auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Strepto-

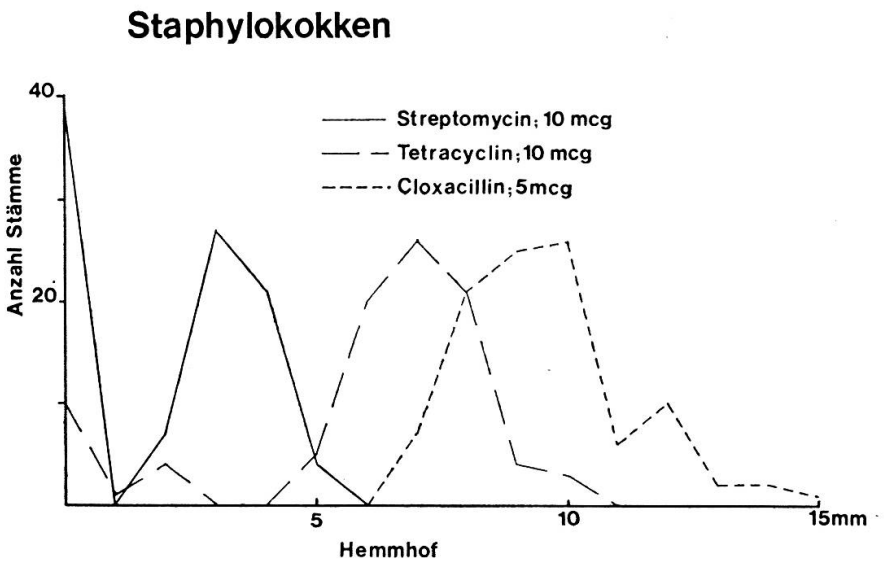

Abb. 2 Häufigkeitsverteilungen der Hemmhöfe von Streptomycin, Tetracyclin und Cloxacillin gegen Staph. aureus.

mycin, Tetracyclin und Cloxacillin geprüft. Abb. 2 zeigt die Häufigkeitsverteilung der gemessenen Hemmhofgrössen.

Aus Abb. 2 ist ersichtlich, dass die entstehenden Hemmhöfe für drei Antibiotika unterschiedlich gross sind. Betrachtet man die Hemmhofverteilung beim Cloxacillin, so ist aus der Abbildung ersichtlich, dass diese weitgehend einer statistischen Normalverteilung entspricht. Der kleinste gemessene Hemmhof beträgt 7 mm, der grösste 15 mm, das Maximum der Kurve liegt bei 10 mm. Die Staphylokokken-Stämme verhalten sich also dem Cloxacillin gegenüber wie eine einheitliche Population. Bei Streptomycin und Tetracyclin dagegen sind deutlich zwei Gruppen zu unterscheiden. Ein Teil der Stämme hat gar keinen oder nur einen sehr kleinen Hemmhof gezeigt (Streptomycin 39 Stämme, Tetracyclin 20 Stämme). Die Häufigkeitsverteilungen der übrigen Stämme entsprechen wieder weitgehend statistischen Normalverteilungen. Das Maximum beim Tetracyclin liegt dabei bei einem Hemmhof von 7 mm, bei Streptomycin bei einem Hemmhof von 3 mm. Sollen diese 100 Stämme in empfindliche und resistente eingeteilt werden, so ist der kritische Grenzwert für alle drei Antibiotika unterschiedlich. Die Limite zwischen empfindlichen und resistenten Stämmen liegt beim Streptomycin bei einem Hemmhof von 1 mm, beim Tetracyclin bei 3–4 mm und bei Cloxacillin bei 6 mm. Es gibt also für einen bestimmten Erreger keinen einheitlichen Grenzwert für alle Antibiotika. Diese Differenzen ergeben sich nicht allein aus dem unterschiedlichen bakteriostatischen Effekt der Antibiotika, sondern sind auch durch ihre uneinheitliche Diffusibilität begründet.

Zur Abklärung der Frage, ob die kritische Beurteilungsgrenze für ein einzelnes Antibiotikum bei allen geprüften Erregern einheitlich sei, sind in Abb. 3 die Hemmhöfe von Tetracyclin gegenüber E. coli, Staphylococcen und Sc. agalactiae aufgezeichnet.

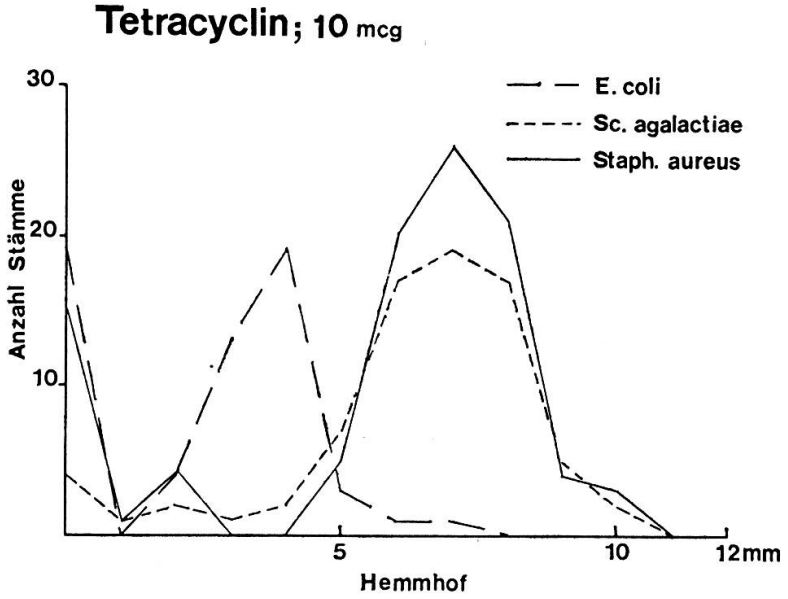

Abb. 3 Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe von Tetracyclin gegen E. coli, Staph. aureus und Sc. agalactiae.

Auch aus dieser Abbildung ist ersichtlich, dass bei allen Erregern gegenüber Tetracyclin deutlich zwei Gruppen unterschieden werden können. Ein Teil der Stämme wies gar keinen oder nur einen kleinen, der Rest einen deutlichen Hemmhof auf. Während der empfindliche Teil der Staphylokokken und Gelbgalt-Streptokokken einen mittleren Hemmhof von 7 mm aufwies, lag das Maximum der Häufigkeitsverteilung von E. coli-Stämmen bei einem Hemmhof von 4 mm. Würde man den kritischen Hemmhof für Tetracyclin für alle drei Erreger bei 3 mm festlegen, so würde ein Teil der Stämme von E. coli fälschlicherweise der resistenten Gruppe zugeordnet.

Aus den Abb. 2 und 3 geht hervor, dass es weder für die einzelnen Erreger noch für die einzelnen Antibiotika eine einheitliche Bewertungsgrenze gibt. Wohl können diese Bewertungsgrenzen identisch sein, wie dies für Staphylokokken und Gelbgalt-Streptokokken gegenüber Tetracyclin der Fall ist, doch ist eine solche Identität zufällig. Es ist deshalb für jedes Antibiotikum und jeden einzelnen Erreger die kritische Bewertungsgrenze separat festzulegen.

Ein zweiter Teil der Untersuchungen diente zur Abklärung der Frage, wie sich diese Häufigkeitsverteilungen bei verschiedenen Variationen der Testmethodik verändern, d. h. es war zu prüfen, ob unterschiedliche Testmethoden die Resultate von Resistenzuntersuchungen bei unserer Art der Auswertung beeinflussen.

In einer ersten Untersuchung interessierte die Frage, inwieweit der Ausfall des Resistenztestes von der Schichtdichte des Agars abhängig ist. Diese Untersuchungen wurden an 100 Stämmen von Staphylococcus aureus mittels des Lochtestverfahrens durchgeführt. Im ersten Durchgang wurden in jede Petri-Schale 20 cm^3 Agar eingefüllt, im zweiten Durchgang wurde diese Agarmenge verdoppelt. Alle übrigen Bedingungen waren identisch. Bei beiden Variationen

des Testes wurden 10 I.E. Penicillin G in das zentrale Loch eingegeben. Die gemessenen Hemmhofgrössen sind in Abb. 4 als normale Häufigkeitsverteilungen dargestellt.

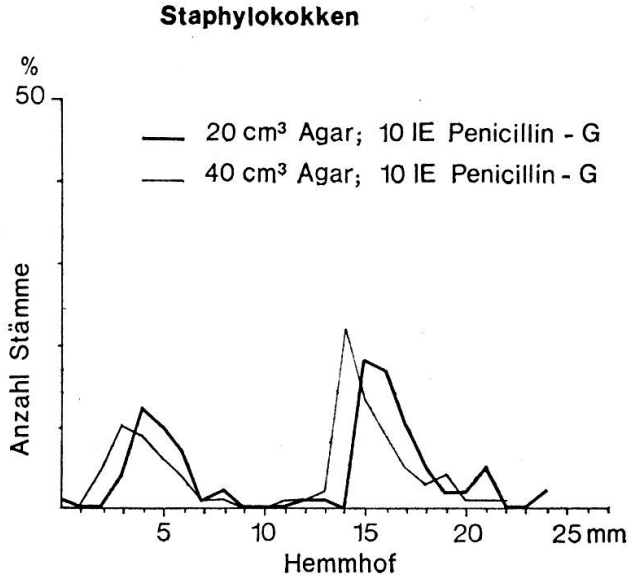

Abb. 4 Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe von Penicillin G gegen Staph. aureus bei verschiedenen Schichtdicken des Agars.

Durch die Verdoppelung der Agarmenge nahm die mittlere Hemmhofgrösse um ca. 1 mm ab. Bei beiden Variationen des Testes sind jedoch deutlich zwei Gruppen von Staphylokokken zu unterscheiden. Die Gruppe mit dem kleineren Hemmhof (3 bzw. 4 mm) entspricht dem resistenten, die Gruppe mit dem grösseren Hemmhof (14 bzw. 15 mm) dem empfindlichen Anteil der Stämme. Die Unterteilung nach Empfindlichkeit hat bei einem Hemmhof von ca. 10 mm zu erfolgen. Da aus dieser Abbildung nicht direkt abgelesen werden kann, ob durch diese methodische Veränderung eine anteilmässige Verschiebung der beiden Gruppen eingetreten ist, sind diese beiden Kurven in Abb. 5 in Form einer kumulativen Häufigkeitsverteilung [12] dargestellt.

Auf der Abszisse ist die Weite der Hemmhöfe in mm aufgetragen. Der Wert auf der zugehörigen Ordinate gibt an, welcher Anteil der getesteten Stämme einen Hemmhof bis zu dieser Grösse aufgewiesen hat. Die kumulativen Häufigkeiten der Hemmhöfe von Penicillin G ergeben das Bild eines Doppel-S. Die Unterteilung der Populationen hat zwischen den beiden S im horizontal verlaufenden Teil der Kurven zu erfolgen. Aus der Abbildung kann also direkt abgelesen werden, dass 37% der geprüften Stämme der resistenten Gruppe und 63% der empfindlichen Gruppe zugeordnet werden müssen.

Durch den identischen Verlauf der beiden Kurven in ihrem horizontalen Abschnitt ist bewiesen, dass durch die veränderte Methodik keine anteilmässige Verschiebung der beiden Gruppen eingetreten ist. Obschon die mittlere Hemmhofgrösse bei Verdoppelung der Agarmenge um ca. 1 mm reduziert ist, hat sich die Bewertungslimite nur wenig verändert.

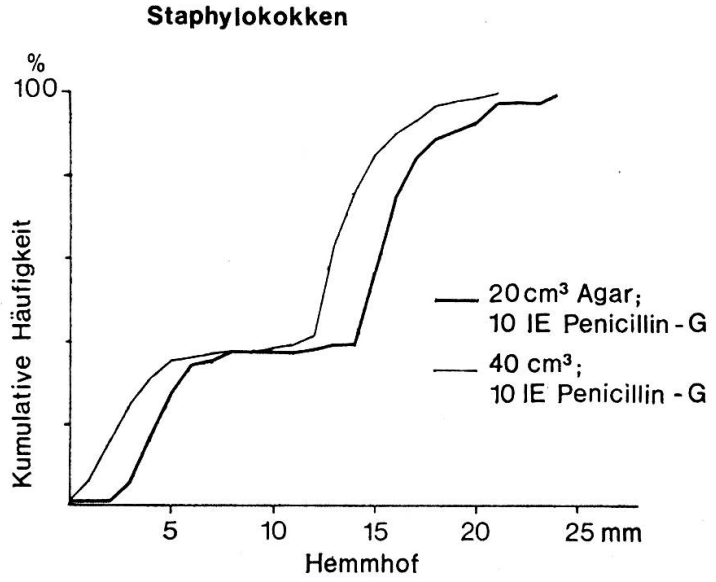

Abb. 5 Kumulative Häufigkeitsverteilung der Abb. 4.

In einem zweiten Versuch wurden dieselben Stämme auf ihr Verhalten gegenüber verschiedenen Penicillin-Dosierungen untersucht. Verwendet wurde wiederum das Lochtestverfahren. Im ersten Durchgang wurden 5 Einheiten Penicillin G ins Loch pipettiert, im zweiten Durchgang wurde diese Menge halbiert. Die gemessenen Hemmhöfe sind in den folgenden beiden Abbildungen als Häufigkeitsverteilungen dargestellt.

Die mittlere Hemmhofgrösse hat sich durch die Halbierung der Penicillin-Dosierung um 1–2 mm reduziert. Deutlich sind jedoch wiederum bei beiden Variationen des Testes zwei Gruppen von Staphylokokken zu unterscheiden.

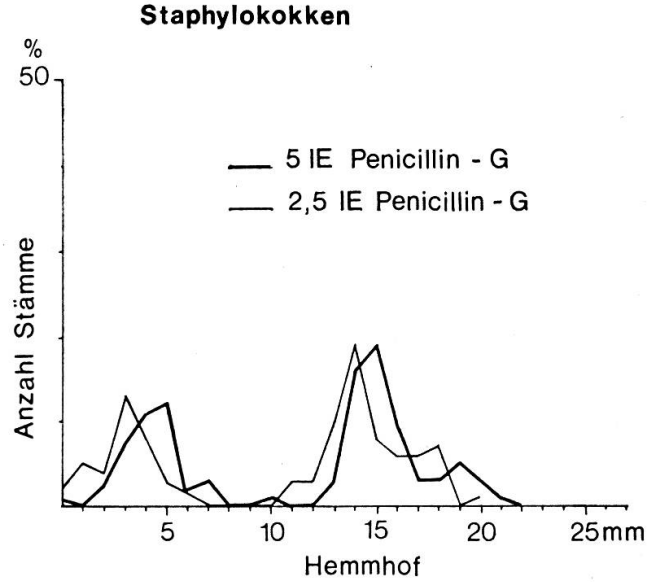

Abb. 6 Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe von Penicillin G gegen Staph. aureus bei verschiedener Penicillindosierung.

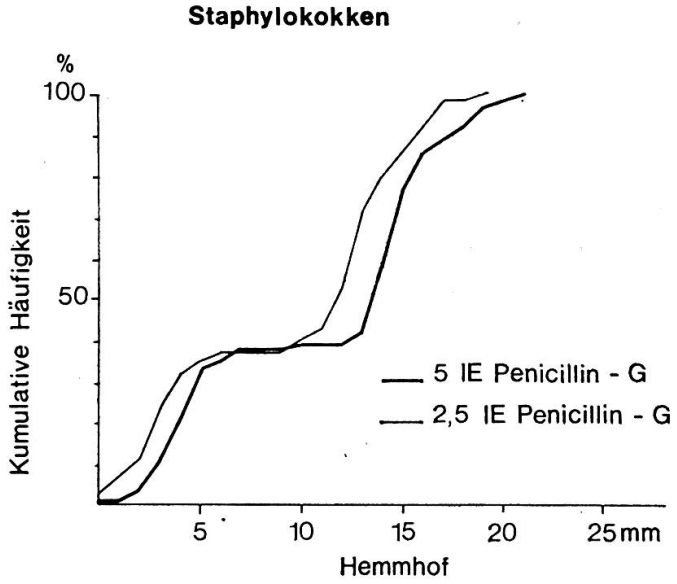

Abb. 7 Kumulative Häufigkeitsverteilung der Abb. 6.

Abb. 7 zeigt, dass trotz veränderter Antibiotikummenge keine anteilmässige Verschiebung der beiden Gruppen eingetreten ist. Dies ist aus dem wiederum identischen Verlauf der beiden Kurven in ihrem horizontalen Abschnitt ersichtlich.

In gleicher Weise wurde an einer andern Gruppe von 100 Staphylokokken untersucht, inwieweit die Einsaatdichte die Hemmhofgrösse und damit den Ausfall des Resistenztestes beeinflusst. Als Methode kam der Blättchentest mit einer Blättchenbeschichtung von 1,5 IE Penicillin G zur Anwendung. In einem ersten Durchgang wurde 1 ml einer 18 Stunden lang bebrüteten Bouillon direkt

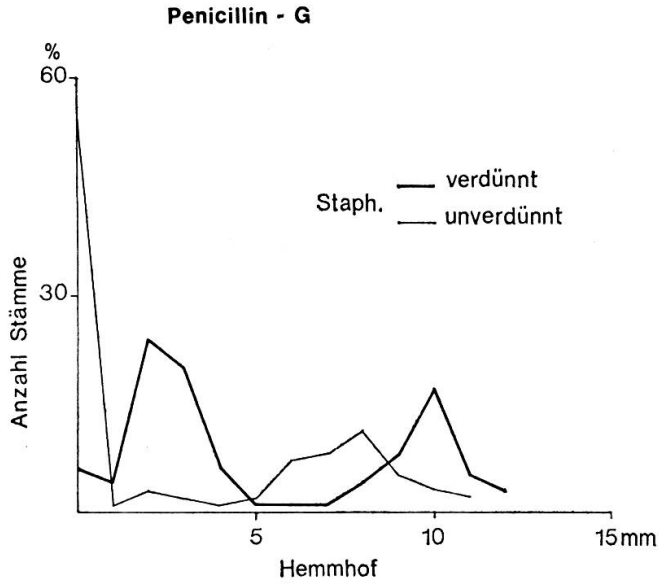

Abb. 8 Häufigkeitsverteilung der Hemmhöfe von Penicillin G gegen Staph. aureus bei verschiedener Einsaatdichte des Erregers.

auf die Testplatte ausgegossen. Im zweiten Durchgang wurde diese Bouillon vor der Überimpfung auf die Platte um einen Faktor hundert verdünnt. Die gemessenen Hemmhofgrössen sind in Abb. 8 als normale Häufigkeitsverteilungen aufgetragen.

Bei beiden Variationen des Testes können wiederum deutlich zwei Anteile mit verschiedener Empfindlichkeit auf Penicillin G unterschieden werden. Die kritische Hemmhofgrösse für die Unterteilung der beiden Gruppen liegt bei der verdünnten Einsaat bei 5–7 mm und bei der dichteren Einsaat bei ca. 4 mm. Sie hat sich also bei dieser Variation des Testes recht beträchtlich verändert.

Um abzuklären, ob durch diese Veränderung der Einsaatdichte eine anteilmässige Verschiebung von der empfindlichen zur resistenten Gruppe hin entstanden ist, sind die Resultate von Abb. 8 in Abb. 9 wiederum als kumulative Häufigkeitsverteilungen aufgezeichnet.

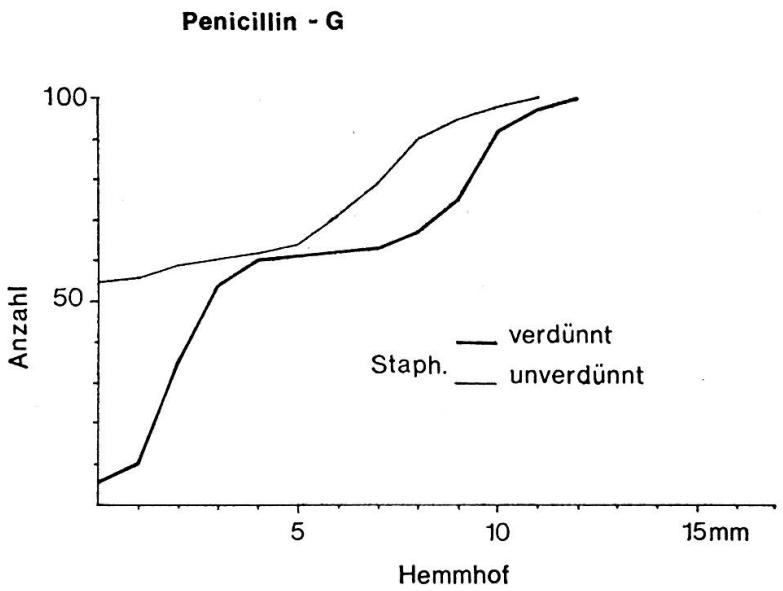

Abb. 9 Kumulative Häufigkeitsverteilung der Abb. 8.

Es ist daraus ersichtlich, dass keine Verschiebung der beiden Anteile eingetreten ist, denn die Kurven verlaufen in ihrem horizontalen Abschnitt wiederum auf gleicher Höhe. Allerdings fällt bei der unverdünnten Einsaat der erste Teil der Doppel-S-Kurve weitgehend weg, da die entsprechenden Stämme überhaupt keinen Hemmhof mehr gezeigt haben.

4. Diskussion und Folgerungen

Geht man die umfangreiche Literatur über Resistenzuntersuchungen an Mastitiserregern kritisch durch, so stellt man fest, dass die verschiedenen Untersucher sehr unterschiedliche Angaben machen über das Ausmass der Antibiotikaresistenz der verschiedenen Mastitiserreger. Ein Teil dieser Unterschiede beruht sicher auf effektiven Resistenzunterschieden, d.h. auf regionalen Ver-

schiedenheiten der Bakterienpopulationen. Ein mehr oder weniger grosser Teil ist aber auch der unterschiedlichen Methodik und der oft subjektiven Auswertung der angewandten Testverfahren zuzuschreiben. Es gab denn auch in den letzten Jahren umfangreiche Bemühungen, die Verfahren zur Resistenzbestimmung auf internationaler Ebene zu standardisieren [2], in der Absicht, Resultate verschiedener Laboratorien vergleichbar zu machen. Da international keine Klarheit darüber besteht, von welcher Konzentration bzw. Hemmhofgrösse an ein Erreger als resistent eingestuft werden soll, blieben diese Bemühungen bis anhin praktisch erfolglos.

Wenn auch einige Untersucher die Methode des Agar-Diffusionstestes mittels des Reihenverdünnungsverfahrens zu standardisieren versucht haben [9, 10, 11], so wurde damit das Problem der Unterscheidung von antibiotikaempfindlichen und antibiotikaresistenten Erregern nicht gelöst, denn über die Durchführung und Interpretation des Reihenverdünnungstestes herrschen im Prinzip die gleichen Unklarheiten wie über die Beurteilung der Hemmhofgrössen beim Agar-Diffusionstest. Erschwerend kommt zum ganzen Problemkreis hinzu, dass über die pharmakokinetischen Eigenschaften der verschiedenen Antibiotika im Euter nur sehr wenig bekannt ist. Dies hat denn auch zur Folge, dass die angegebenen minimalen Hemmkonzentrationen für das Euter um mehrere Zehnerpotenzen variieren.

Es stellt sich deshalb die grundsätzliche Frage, ob die Bezeichnung «resistent» überhaupt richtig ist oder ob nicht exakterweise von einer «verminderten Empfindlichkeit» gesprochen werden sollte. Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass scheinbar resistente Keime mit den heute verwendeten Dosierungen noch durchaus bekämpft werden können. Gleichzeitig wird auch von allen Untersuchern betont, dass eine Resistenzuntersuchung keine Prognose oder Garantie über Erfolg oder Misserfolg der Therapie geben kann [9, 13].

Soll die Resistenzuntersuchung eine sinnvolle Bereicherung der Routinediagnostik darstellen, so muss sie in der Lage sein, eine reduzierte Empfindlichkeit des zu bekämpfenden Erregers mit ausreichender Sicherheit und Klarheit anzuzeigen, so dass das Medikament und die Dosis gezielt gewählt werden können. Nur wenn die Resistenzuntersuchung diese minimalen Anforderungen erfüllen kann, ist ihre routinemässige Anwendung gerechtfertigt.

Da das Resultat jeder Sensibilitätsprüfung letztlich von der Festlegung der Bewertungsgrenze abhängig ist, kommt dieser Frage zentrale Bedeutung zu. Ziel unserer Untersuchungen war deshalb, diese Bewertungsgrenze zu objektivieren, um dadurch die Resultate der verschiedenen Variationen des Testes vergleichbar zu machen. Da der Reihenverdünnungstest als die am meisten verwendete Referenzmethode im Prinzip mit der gleichen Problematik behaftet ist, suchten wir nach einer Möglichkeit, die verschiedenen Variationen des Agar-Diffusionstestes in sich selber standardisieren zu können. Unsere Untersuchungen haben deutlich gezeigt, dass durch das Aufzeichnen der gemessenen Hemmhofgrössen in Form von Häufigkeitsverteilungen die kritische Bewer-

tungsgrenze für die Unterscheidung von antibiotikaempfindlichen und antibiotikaresistenten Erregern genau und objektiv festgelegt werden kann. Besteht eine Bakterienart aus zwei Gruppen mit unterschiedlicher Empfindlichkeit auf ein bestimmtes Antibiotikum, so ergibt die Häufigkeitsverteilung eine Kurve mit zwei deutlichen Maxima. Zwischen den beiden Gruppen sind jeweils nur sehr wenige Erreger einzuordnen. Die Bezeichnung «schwach empfindlich» oder «teilweise resistent» wird also nur für einen kleinen Anteil der Erreger zutreffend sein. Wenn in vielen Arbeiten ein relativ hoher Prozentsatz der Erreger in diesen beiden Kategorien eingeordnet ist, so dürfte das unserer Ansicht nach einer falschen Festlegung der Grenzen zuzuschreiben sein. Aus den ersten beiden Abbildungen geht hervor, dass die kritischen Beurteilungsgrenzen für jedes Antibiotikum und für jede Erregerart separat ermittelt werden müssen.

Dass der Agar-Diffusionstest in allen von uns geprüften Variationen mittels Häufigkeitsverteilungen standardisiert werden kann, zeigen die Abbildungen im zweiten Teil der Arbeit. Trotz verschiedener Methodik können identische Ergebnisse erhalten werden. Dies geht aus den kumulativen Häufigkeitsverteilungen mit aller Deutlichkeit hervor. Sie bringen zudem den Vorteil, sowohl die Bewertungsgrenze als auch den prozentualen Anteil der resistenten Erreger direkt ermitteln zu können.

Unser Vorschlag geht deshalb dahin, dass jedes Laboratorium, das sich mit Resistenzuntersuchungen beschäftigt, die kritische Beurteilungsgrenze für seine Variation des Testes durch Aufzeichnen solcher Häufigkeitsverteilungen festlegt. Zur Veröffentlichung der Ergebnisse von Resistenzuntersuchungen empfehlen wir die Darstellung in Form von kumulativen Häufigkeitsverteilungen, weil dadurch dem Leser die Möglichkeit gegeben wird, die Resultate selber zu interpretieren.

Zusammenfassung

Bei je 100 Stämmen von Staph. aureus, Sc. agalact. und E. coli wurde mittels Agardiffusion die Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Antibiotika überprüft. Die Aufzeichnung der Häufigkeitsverteilung der beobachteten Hemmhöfe erlaubte die objektive Unterscheidung von verschiedenen Populationen. Trotz Variation einzelner Faktoren der Testmethodik (Einsaatdichte, Agarmenge, Antibiotikumkonzentration) blieb jeweils der Anteil der «resistenten» Stämme konstant.

Die Ergebnisse zeigen, dass die kritische Hemmhofgrösse zur Differenzierung zwischen «empfindlichen» und «resistenten» Stämmen für jeden Erreger und jedes Antibiotikum individuell aufgrund einer Häufigkeitsverteilung festgelegt werden muss. Für die Interpretation der Ergebnisse und zum direkten Vergleich verschiedener Untersuchungen erwies sich die kumulative Häufigkeitsverteilung als optimal.

Résumé

La sensibilité à l'égard de divers antibiotiques a été controlée par la diffusion dans l'agar pour 100 souches de chacun des germes suivants: Staph. aureus, Sc. agalact. et E. coli. La notation de la répartition des fréquences des aréoles inhibées observées permet une différentiation objective des différentes populations. Malgré la variation de certains facteurs due à la méthode de testage (densité de l'ensemencement, quantité de l'agar, concentration de l'antibiotique) la fraction de germes résistants restait cependant constante.

Les résultats démontrent que la grandeur critique des aréoles inhibées pour différencier les germes «sensibles» et «résistants» correspondant à chaque germe et à chaque antibiotique doit être fixée individuellement au moyen de la répartition des fréquences. La répartition cumulative des fréquences s'est avérée être optimale pour l'interprétation des résultats et pour la comparaison directe des différents examens.

Riassunto

In 100 colture ciascuna composta da staph. aureus, sc. agalact. ed e. coli è stata controllata la sensibilità a differenti antibiotici per mezzo di una diffusione in agar. Tenendo conto della distribuzione delle zone di inibizione della crescita è stato possibile fare una obiettiva differenziazione tra le varie popolazioni. Anche variando alcuni fattori dei metodi di controllo (densità di semina, quantità di agar, concentrazione degli antibiotici) la proporzione delle colture resistenti è rimasta costante.

I risultati dimostrano che la dimensione della zona di inibizione della crescita che differenzia le colture in «sensibili» e «resistenti» deve essere stabilita per ciascun germe e ciascun antibiotico separatamente sulla base della sua distribuzione. Al fine di interpretare i risultati e fare un paragone diretto tra i differenti metodi di controllo la concentrazione cumulativa fu la più adatta.

Summary

100 strains each of staph. aureus, sc. agalact. and e. coli were tested by means of an agar diffusion for their sensitivity to different antibiotics. By recording the concentration patterns of the zones of growth inhibition it was possible to make an objective differentiation between various populations. Although certain factors of the test method were varied (density of the inoculum, amount of agar, concentration of the antibiotic) the proportion of "resistant" strains remained constant.

The results show that the critical size of the zone of growth inhibition which differentiates between "sensitive" and "resistant" strains has to be established for each germ and each antibiotic separately on the basis of its frequency pattern. For interpreting the results and making direct comparisons between different tests, the cumulative concentration pattern proved to be the best.

Literatur

[1] Dittus G.: Untersuchungen über die Antibiotikaresistenz euterpathogener Staphylokokken. Vet. Diss. München 1969. – [2] Ericsson H. M.: Antibiotic Sensitivity Testing, Report of an International Collaborative Study. Karolinska Sjukhuset, Stockholm 1968. – [3] Frieding H.: Untersuchungen zur Antibiotikaresistenz euterpathogener Streptokokken. Vet. Diss. München 1972. – [4] Gedek W.: Zum Vorkommen antibiotikaresistenter Stämme der Familie Micrococcaceae in Kuhmilch. Tierärztl. Umsch. *19*, 337–340 (1964). – [5] Klima H.: Auswertung von Antibiogrammen, durchgeführt an bakteriologischen Befunden aus Mastitisbeständen. Vet. med. Nachr., 19–24 (1968). – [6] Kortum H.: Antibiotika-Resistenz euterpathogener Streptokokken. Vet. Diss. München 1963. – [7] Müller R.: Untersuchungen über die Antibiotikaresistenz von Mastitiserregern. Vet. Diss. Zürich 1975. – [8] Müller R. und Berchtold M.: Methodische Untersuchungen zur Objektivierung der Antibiotikaresistenz von Mastitiserregern. Zbl. Vet. Med. A, im Druck (1977). – [9] Naumann P.: Antibiotika-Blutspiegel und Resistenzbestimmung. Antibiot. et Chemotherapia, Fortschr. *10*, 1–93 (1962). – [10] Patrick W. C.: Diameter of inhibition zones correlated with tube sensitivities using 6 antibiotics. Antibiot. Chemother. *1*, 133–153 (1951). – [11] Petersdorf R. G. and Sherris J. C.: Methods and significance of in vitro testing of bacterial sensitivity to drugs. Am. J. Med. *39*, 766–779 (1965). – [12] Sachs L.: Statistische Auswertungsmethoden. Springer Verlag, Berlin 1972. – [13] Walter A. und Heilmeyer L.: Antibiotika-Fibel. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1969. – [14] Weigt U.: Zur Zunahme der Antibiotikaresistenz bei Mastitiserregern. Dtsch. tierärztl. Wschr. *75*, 617–622 (1968).