



www.thermofisher.com

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

**REF** PB5303A

### Intended Use

Mueller-Hinton Agar with Horse Blood is an antimicrobial susceptibility agar recommended for disc diffusion and MIC testing against fastidious microorganisms isolated from clinical samples.

The device is for professional use only, is not automated nor is it a companion diagnostic.

### Summary and Explanation

Streptococci are Gram-positive cocci which inhabit a wide range of ecological niches, from non-pathogenic species used in the yoghurt making industry, to commensal members of the mammal oral microbiome, and invasive human pathogens<sup>1,2,3</sup>. Streptococci can be classified by serotyping based on cell-wall carbohydrate composition into the Lancefield groups A to S, and the non-Lancefield Streptococci<sup>1,2,3</sup>. Non-Lancefield Streptococci cannot be grouped by Lancefield serotyping, and include a broad range of non-pathogenic and pathogenic species with *S. pneumoniae* thought to be the most significant human pathogen<sup>1,2,3</sup>.

A number of National Institute for Health and Care Excellence (NICE) and Public Health England (PHE) guidelines describe *S. pneumoniae* as one of the leading causes of meningitis and bloodstream infections, both invasive diseases associated with high morbidity and mortality<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* is a notifiable organism, meaning that infection with this pathogen is of such clinical significance that it is required by law to report diagnosis of these diseases to the government authority PHE<sup>3,9</sup>. The status of *S. pneumoniae* as a notifiable organism highlights the importance of infection surveillance to identify future disease outbreaks and reduce potential morbidity and mortality<sup>10,11</sup>.

### Principle of Method

Mueller-Hinton Agar has been criticised because of variation in performance between manufacturers and batches of medium. These effects were shown as:

- (1) Minimum inhibitory concentration (MIC) variations with aminoglycosides against *Pseudomonas aeruginosa* and tetracycline against *Staphylococci*. This may have been due to differing concentrations of the divalent cations of calcium and magnesium.
- (2) Variation in thymine and thymidine content, which affect sulphonamide and trimethoprim MIC values
- (3) Differences in the characteristics of the agar used in the medium, especially diffusion properties

In light of the criticisms the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (previously NCCLS) called interested manufacturers together to discuss the standardisation and stabilisation of Mueller-Hinton Agar. Control methods were established whereby critical antimicrobial/organism combinations had to yield consistent zones of inhibition within two mm of the specified diameters in the standard. The result of this cooperative effort is that Mueller-Hinton Agar is now a standard medium.

# Thermo

## SCIENTIFIC

Supplemented Mueller-Hinton Agar is recommended both by CLSI and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) for testing non-fastidious strains. Supplements are added to make it suitable for more fastidious strains.

### Typical Formula

	grams per litre
Beef, dehydrated infusion from	300.0
Casein hydrolysate	17.5
Starch	1.5
NAD	0.02
Agar	17.0
Defibrinated horse blood	50.0ml

### Physical Appearance

Colour	Signal red
Clarity	Opaque
Fill weight	23.5 ± 5%
pH	7.3 ± 0.1

### Materials Provided

PB5303A: 10 x 90mm Mueller Hinton agar with horse blood plates

Each plate should only be used once.

### Materials Required but Not Supplied

- Inoculating loops
- Swabs
- Collection containers
- Incubators
- Quality control organisms

### Optional Materials

- Erythromycin antimicrobial susceptibility discs (CT0020B)
- Cefpodoxime antimicrobial susceptibility discs (CT1612B)
- Ertapenem antimicrobial susceptibility discs (CT1761B)
- Moxifloxacin antimicrobial susceptibility discs (CT1633B)

### Storage

- Store product in its original packaging at 2–12°C until used.
- The product may be used until the expiry date stated on the label.
- Store away from light.
- Allow product to equilibrate to room temperature before use.
- Do not incubate prior to use.

### Warnings and Precautions

- For in vitro diagnostic use only.
- For professional use only.
- Inspect the product packaging before first use.
- Do not use the product if there is any visible damage to the packaging or plates.
- Do not use the product beyond the stated expiry date.
- Do not use the device if signs of contamination are present.
- Do not use the device if the colour has changed or there are other signs of deterioration.
- It is the responsibility of each laboratory to manage waste produced according to their nature and degree of hazard and to have them treated or disposed of in accordance with any federal, state and local applicable regulations. Directions should be read and followed carefully. This includes the disposal of used or unused

reagents as well as any other contaminated disposable material following procedures for infectious or potentially infectious products. Refer to the Material Safety Data Sheet (MSDS) for safe handling and disposal of the product ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Serious Incidents

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the relevant regulatory authority in which the user and/or the patient is established.

### Specimen Collection, Handling and Storage

Specimens should be collected and handled following local recommended guidelines, such as the CLSI standard M100<sup>10</sup>.

### Procedure

Allow plates and antimicrobial susceptibility disks to equilibrate to room temperature before use. The agar surface should not have excess moisture prior to inoculation.

Inoculum may be prepared utilizing either the growth method or the direct colony method. Refer to appropriate DIN/CLSI documents for guidelines specific to each test organism

#### CLSI Method:

1. Growth method:
  - a. Select at least 3-5 isolated colonies of the same morphology type from the agar culture. Touch the top of each colony with a loop and transfer to 4-5ml of a suitable broth medium such as Tryptic Soy Broth (TSB)
  - b. Incubate the broth culture at 35-37°C until the turbidity equals or exceeds that of a 0.5 McFarland or equivalent.
  - c. If necessary, adjust the turbidity of the suspension with sterile saline or broth to achieve a turbidity to a 0.5 McFarland standard. This step may be performed visually or using a photometric device. If performed visually use adequate light to compare the suspension to the McFarland 0.5 against a card with a white background and contrasting black lines<sup>5</sup>.
2. Direct Colony Method: (Method of choice for streptococci and staphylococci).
  - a. Prepare a direct suspension of the test organism in saline or broth from an 18-24 hour culture on nonselective media.
  - b. Adjust the turbidity of the suspension as described under Growth method.
3. Inoculate Agar plates within 15 minutes of preparing organism suspension.
4. Immerse a sterile swab into the suspension. Rotate the swab against the side of the tube above the fluid level to remove excess fluid.
5. Inoculate the surface in three planes by rotating the plate approximately 60 degrees each time.
6. Replace the lid and allow the plate to rest on the bench at least 3 minutes but no longer than 15 minutes for the inoculum to be absorbed before applying antimicrobial susceptibility disks.
7. Apply disks individually or by using an antimicrobial disk dispenser. Disk should not be closer than 24 mm from centre to centre and not placed too close to the edge of the plate. Because some drug diffuses almost instantaneously, do not relocate a disk once it has come in contact with the agar surface. Tap disks gently with sterile needle or forceps to ensure complete contact with the agar surface.

8. Invert the plate and place in the incubator within 15 minutes of disk application.
  - a. Incubate Mueller-Hinton Agar with Sheep Blood plates aerobically at 35-37°C for 16-18 hours.
 

**Note:** Staphylococci and enterococci require a full 24 hours incubation. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) may not be detected at incubation temperatures above 35°C.
  - b. Incubate *Streptococcus* spp. in 5-7% CO<sub>2</sub> at 35-37°C for 20-24 hours.
  - c. Refer to CLSI document M45 for incubation times, temperatures, and atmospheres for fastidious or infrequently isolated bacteria<sup>19</sup>.

### Interpretation

After 16-24 hours incubation at 35–37°C, *S. pneumoniae* typically exhibit 1-2 mm colonies and exhibit α-haemolysis on blood agar. *S. pneumoniae* can also appear as draughtsman colonies with a depressed centre and elevated rim.

### Quality Control

It is the responsibility of the user to perform Quality Control testing taking into account the intended use of the medium, and in accordance with any local applicable regulations (frequency, number of strains, incubation temperature etc.).

Incubation Conditions: 18 ± 2h @ 36 ± 1°C in an enhanced carbon dioxide atmosphere

Microorganism	Antibiotic disc	Zone of Inhibition Diameter (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC®49619	Erythromycin (E15)	26-32
	Cefpodoxime (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacin (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®49766	Erythromycin (E15)	10-16
	Cefpodoxime (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacin (MXF 5)	30-36

### Limitations

Organisms with atypical enzyme patterns may give anomalous reactions on Mueller-Hinton Agar with Horse Blood.

### Performance Characteristics

Accuracy has been demonstrated through review of the QC data. Correct detection of fastidious microorganisms is confirmed by the inclusion of a well-characterised isolate in the QC processes performed as part of the manufacture of each batch of the device. The precision of Mueller-Hinton Agar with Horse Blood (PB5303A) was demonstrated by an overall pass rate of 99.7% obtained for the product over an 11 year period (2010-2021; 3439 batches) This shows that the performance is reproducible.








Performance is assessed as the zone of inhibition diameter measured on the test medium using Thermo Scientific™ Oxoid™ antimicrobial susceptibility discs, compared with the specified diameters in the CLSI standard M100<sup>10</sup>.

The inoculum is prepared from working cultures, diluted to obtain the specified inoculum levels and the test media is inoculated. Antibiotic discs are loaded in the same order and concentrations as they appear in the inspection plan for

the medium. Following incubation at 34-36°C for 16-20 hours in 4-6% CO<sub>2</sub>, the zone of inhibition diameter of the test organisms is measured, and the results and conclusions can be created.

**Bibliography**









1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsiTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.


	Contains sufficient for <n> tests
	Do not use if packaging damaged and consult instructions for use
	Manufacturer
	Authorized representative in the European Community/ European Union
	European Conformity Assessment
	UK Conformity Assessment
	Unique device identifier



©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ATCC and ATCC catalogue marks are a trademark of American Type Culture Collection. CLSI is a trademark of the Clinical Laboratory and Standards Institute. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

**Symbol Legend**

Symbol	Definition
	Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Batch code
	Temperature limit
	Use-by date
	Keep away from sunlight
	Do not re-use
	Consult instructions for use or consult electronic instructions for use

 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England



For technical assistance please contact your local distributor.

**Revision information**

Version	Date of issue and modifications introduced
1.0	2022-11-02. New document. (LIVE)



www.thermofisher.com

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Domaine d'application

La gélose Mueller-Hinton au sang de cheval est une gélose de sensibilité aux antimicrobiens recommandée pour la diffusion par disque et les tests de CMI pour les micro-organismes exigeants isolés à partir d'échantillons cliniques.

Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement, n'est pas automatisé et n'est pas un diagnostic compagnon.

### Résumé et description

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif qui occupent un large éventail de niches écologiques, des espèces non pathogènes utilisées dans l'industrie de la fabrication de yaourts aux commensaux du microbiome buccal des mammifères et aux agents pathogènes humains invasifs<sup>1,2,3</sup>. Les streptocoques peuvent être classés par sérotypage, sur la base de la composition glucidique de la paroi cellulaire, en streptocoques des groupes A à S de Lancefield et en streptocoques non groupables selon la classification de Lancefield<sup>1,2,3</sup>. Les streptocoques non groupables ne peuvent pas être regroupés par sérotypage selon la classification de Lancefield et incluent toute une série d'espèces non pathogènes et pathogènes, *S. pneumoniae* étant considérée comme l'agent pathogène humain le plus important<sup>1,2,3</sup>.

Un certain nombre de directives du National Institute for Health and Care Excellence (NICE) et du Public Health England (PHE) décrivent *S. pneumoniae* comme l'une des principales causes de méningite et d'infections du sang, deux maladies invasives associées à une morbidité et une mortalité élevées<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* est un organisme à déclaration obligatoire, ce qui signifie que l'infection par cet agent pathogène est d'une telle importance clinique que la loi exige de signaler le diagnostic de ces maladies à l'autorité gouvernementale PHE<sup>3,9</sup>. Le statut de *S. pneumoniae* en tant qu'organisme à déclaration obligatoire souligne l'importance de la surveillance des infections afin d'identifier les futures épidémies et de réduire la morbidité et la mortalité potentielles<sup>10,11</sup>.

### Principe de la méthode

La gélose Mueller-Hinton a été critiquée en raison de la variation des performances entre les fabricants et les lots de milieu. Ces effets ont été montrés comme suit :

(1) Variations de la concentration minimale inhibitrice (CMI) avec les aminoglycosides sur *Pseudomonas aeruginosa* et la tétracycline sur les staphylocoques. Cela peut être dû à des concentrations différentes des cations divalents de calcium et de magnésium.

(2) Variation de la teneur en thymine et en thymidine, qui affecte les valeurs de CMI des sulfamides et du triméthoprime

(3) Différences dans les caractéristiques de la gélose utilisée dans le milieu, notamment les propriétés de diffusion

À la lumière des critiques, le Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (anciennement NCCLS) a réuni les fabricants intéressés pour discuter de la standardisation et de la stabilisation de la gélose Mueller-Hinton. Des méthodes de contrôle ont été établies afin que les

# Thermo

## SCIENTIFIC

combinaisons importantes d'antimicrobiens/organismes produisent des zones constantes d'inhibition à moins de deux mm des diamètres spécifiés dans la norme. Grâce à cette initiative coopérative, la gélose Mueller-Hinton constitue désormais un milieu standard.

La gélose Mueller-Hinton supplémentée est recommandée à la fois par le CLSI et le Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST) pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens des souches non exigeantes. Des suppléments sont ajoutés pour la rendre adaptée aux souches plus exigeantes.

### Formule typique

	en grammes par litre
Bœuf, infusion déshydratée de	300,0
Caséine hydrolysée	17,5
Amidon	1,5
NAD	0,02
Gélose	17,0
Sang de cheval défibriné	50 ml

### Apparence physique

Couleur	Rouge foncé
Clarté	Opaque
Poids de remplissage	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Matériel fourni

PB5303A : 10 plaques de 90 mm de gélose Mueller-Hinton au sang de cheval

Chaque plaque ne doit être utilisée qu'une seule fois.

### Matériel requis, mais non fourni

- Anses d'inoculation
- Écouvillons
- Récipients de prélèvement
- Incubateurs
- Organismes pour le contrôle qualité

### Matériel facultatif

- Disques de test de sensibilité aux antimicrobiens à l'érythromycine (CT0020B)
- Disques de test de sensibilité aux antimicrobiens à la céfepodoxime (CT1612B)
- Disques de test de sensibilité aux antimicrobiens à l'ertapénem (CT1761B)
- Disques de test de sensibilité aux antimicrobiens à la moxifloxacine (CT1633B)

### Conservation

- Conserver le produit dans son emballage d'origine à 2-12 °C jusqu'à ce qu'il soit utilisé.
- Le produit peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Conserver à l'abri de la lumière.
- Attendre que le produit atteigne la température ambiante avant de l'utiliser.
- Ne pas incuber avant utilisation.

### Avertissements et précautions

- Pour usage diagnostique in vitro uniquement.
- Usage exclusivement réservé à des professionnels.
- Inspecter l'emballage du produit avant la première utilisation.
- Ne pas utiliser le produit si l'emballage ou les boîtes présentent des traces de dommages visibles.
- Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser le produit s'il présente des signes de contamination.

- Ne pas utiliser le produit si sa couleur a changé ou s'il présente d'autres signes de détérioration.
- Il relève de la responsabilité de chaque laboratoire de gérer les déchets produits conformément à leur nature et à leur degré de dangerosité et de les traiter ou de les éliminer conformément aux réglementations fédérales, nationales et locales applicables. Les instructions doivent être lues et respectées scrupuleusement. Cela inclut l'élimination des réactifs utilisés ou inutilisés ainsi que de tout autre matériel jetable contaminé après les procédures impliquant des produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Consulter la fiche de données de sécurité du matériel (MSDS) pour savoir comment manipuler et éliminer le produit en toute sécurité [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com).

### Incidents graves

Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité réglementaire compétente dont dépendent l'utilisateur et/ou le patient.

### Prélèvement, manipulation et stockage des échantillons

Les échantillons doivent être prélevés et manipulés conformément aux recommandations locales, telles que les normes CLSI M100<sup>10</sup>.

### Procédure

Laisser les plaques et les disques de sensibilité aux antimicrobiens s'équilibrer à température ambiante avant utilisation. La surface de la gélose ne doit pas présenter un excès d'humidité avant l'ensemencement.

L'inoculum peut être préparé en utilisant soit la méthode de croissance, soit la méthode de colonie directe. Se référer aux documents DIN/CLSI appropriés pour les directives spécifiques à chaque organisme de test.

### Méthode CLSI :

- Méthode de croissance :
  - Sélectionner au moins 3 à 5 colonies isolées du même type de morphologie à partir de la culture sur gélose. Toucher le haut de chaque colonie avec une anse et transférer le contenu dans 4 à 5 ml d'un milieu de bouillon approprié tel que le bouillon de soja tryptique (TSB).
  - Incuber le bouillon de culture à 35 - 37 °C jusqu'à ce que la turbidité soit égale ou supérieure à celle d'un 0,5 McFarland ou équivalent.
  - Si nécessaire, ajuster la turbidité de la suspension avec une solution saline ou un bouillon stériles pour obtenir une turbidité de norme 0,5 McFarland. Cette étape peut être effectuée visuellement ou à l'aide d'un appareil photométrique. Si elle est effectuée visuellement, utiliser une lumière adéquate pour comparer la suspension au 0,5 McFarland sur une carte avec un fond blanc et des lignes noires de contraste<sup>5</sup>.
- Méthode de colonie directe : (méthode de prédilection pour les streptocoques et les staphylocoques).
  - Préparer une suspension directe de l'organisme de test dans une solution saline ou un bouillon à partir d'une culture de 18 à 24 heures sur un milieu non sélectif.
  - Ajuster la turbidité de la suspension comme décrit dans la méthode de croissance.

- Ensemencer les plaques de gélose dans les 15 minutes suivant la préparation de la suspension d'organismes.
- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension. Faire pivoter l'écouvillon sur le côté du tube au-dessus du niveau de liquide pour éliminer l'excès de liquide.
- Ensemencer la surface dans trois plans en faisant tourner la plaque d'environ 60 degrés à chaque fois.
- Replacer le couvercle et laisser la plaque reposer sur la paillasse au moins 3 minutes, mais pas plus de 15 minutes pour que l'inoculum soit absorbé avant d'appliquer les disques de sensibilité aux antimicrobiens.
- Appliquer les disques individuellement ou en utilisant un distributeur de disques antimicrobiens. Le disque ne doit pas être à moins de 24 mm de centre à centre et ne doit pas être placé trop près du bord de la plaque. Étant donné que certains médicaments se diffusent presque instantanément, ne pas déplacer un disque une fois qu'il est entré en contact avec la surface de la gélose. Tapoter doucement les disques avec une aiguille ou une pince stérile pour assurer un contact complet avec la surface de la gélose.
- Inverser la plaque et la placer dans l'incubateur dans les 15 minutes suivant l'application du disque.
  - Incuber les plaques de gélose Mueller-Hinton au sang de mouton en aérobiose à 35 - 37 °C pendant 16 à 18 heures.  
**Remarque :** Les staphylocoques et les entérocoques nécessitent une incubation complète de 24 heures. Les staphylocoques résistants à la méticilline (MRS) peuvent ne pas être détectés à des températures d'incubation supérieures à 35 °C.
  - Incuber *Streptococcus* spp. dans 5 à 7 % de CO<sub>2</sub> à 35 - 37 °C pendant 20 à 24 heures.
  - Se reporter au document CLSI M45 pour les temps d'incubation, les températures et les atmosphères pour les bactéries exigeantes ou rarement isolées<sup>19</sup>.

### Interprétation

Après 16 à 24 heures d'incubation à 35 – 37 °C, les souches *S. pneumoniae* présentent généralement des colonies de 1 à 2 mm ainsi qu'une α-hémolyse sur la gélose au sang. Les souches *S. pneumoniae* peuvent également apparaître sous forme de colonies rondes et bombées avec un centre aplati et un bord surélevé.

### Contrôle qualité

L'utilisateur est responsable de la réalisation d'un test de contrôle qualité en prenant en compte l'utilisation prévue du milieu et conformément aux réglementations locales en vigueur (fréquence, nombre de souches, température d'incubation, etc.).

Conditions d'incubation : 18 ± 2 h à 36 ± 1 °C dans une atmosphère de gaz carbonique renforcée

Micro-organisme	Disque antibiotique	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC®49619	Érythromycine (E15)	26-32
	Cefpodoxime (CPD 10)	29-35
	Ertapénème (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacine (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®49766	Érythromycine (E15)	10-16
	Cefpodoxime (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacine (MXF 5)	30-36

### Limites

Les organismes avec des profils enzymatiques atypiques peuvent engendrer des réactions anormales sur la gélose Mueller-Hinton au sang de cheval.

## Performances

La précision a été démontrée par l'examen des données cliniques. La détection correcte des micro-organismes sensibles est confirmée par l'inclusion d'isolats bien caractérisés dans les processus cliniques effectués dans le cadre de la fabrication de chaque lot de produit. La précision de la gélose Mueller-Hinton au sang de cheval (PB5303A) a été démontrée par un taux de réussite global de 99,7 % obtenu pour le produit sur une période de 11 ans (2010-2021 ; 3 439 lots). Les performances sont donc reproductibles.



Les performances sont évaluées en fonction du diamètre de la zone d'inhibition mesuré sur le milieu de test à l'aide des disques de sensibilité aux antimicrobiens Thermo Scientific™ Oxoid™, par rapport aux diamètres spécifiés dans la norme CLSI M100<sup>10</sup>.














L'inoculum est préparé à partir de cultures de travail, dilué pour obtenir les niveaux d'inoculum spécifiés et le support de test est inoculé. Les disques d'antibiotiques sont chargés dans le même ordre et les mêmes concentrations que dans le plan de contrôle du milieu. Après incubation à 34 - 36 °C pendant 16 à 20 heures dans 4 à 6 % de CO<sub>2</sub>, la zone de diamètre d'inhibition des organismes de test est mesurée, et les résultats et conclusions peuvent être créés.

## Bibliographie

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.


## Symboles

Symbole	Définition
	Référence catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro

	Code de lot
	Limite de températures
	Date limite d'utilisation
	Tenir à l'abri de la lumière directe du soleil
	Ne pas réutiliser
	Se référer aux instructions d'utilisation ou consulter les instructions d'utilisation électroniques
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter les instructions d'utilisation
	Fabricant
	Représentant agréé pour la Communauté européenne/ Union européenne
	Évaluation de la conformité européenne
	Évaluation de la conformité pour le Royaume-Uni
	Identifiant unique du dispositif



© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés. ATCC et la marque catalogue ATCC sont des marques déposées d'American Type Culture Collection. CLSI est une marque du Clinical Laboratory and Standards Institute. Toutes les autres marques sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.

 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Angleterre



Pour une assistance technique, contacter le distributeur local.

## Informations de révision

Version	Date de publication et modifications apportées
1.0	2022-11-02. Nouveau document. (EN DIRECT)



www.thermofisher.com

# Thermo

## SCIENTIFIC

Müller-Hinton-Agars zu besprechen. Es wurden Kontrollmethoden festgelegt, bei denen kritische antimikrobielle/Organismus-Kombinationen konsistente Hemmzonen innerhalb von zwei mm der in der Norm angegebenen Durchmesser ergeben mussten. Das Ergebnis dieser Zusammenarbeit ist, dass das Müller-Hinton-Agar jetzt ein Standardmedium ist.

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

**REF** PB5303A

### Verwendungszweck

Müller-Hinton-Agar mit Pferdeblut ist ein Agar mit antimikrobieller Empfindlichkeit, der für Disc-Diffusions- und MHK-Tests gegen anspruchsvolle Mikroorganismen, die aus klinischen Proben isoliert wurden, empfohlen wird. Das Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt, es ist nicht automatisiert und es ist auch kein Begleitdiagnostikum.

### Zusammenfassung und Erläuterung

Streptokokken sind gram-positive Kokken, die ein breites Spektrum ökologischer Nischen bewohnen, von nicht pathogenen Spezies, die in der Joghurtherstellungsindustrie verwendet werden, bis hin zu kommensalen Mitgliedern des oralen Mikrobioms von Säugetieren und invasiven menschlichen Krankheitserregern<sup>1,2,3</sup>. Streptokokken können durch Serotypisierung basierend auf der Kohlenhydratzusammensetzung der Zellwand in die Lancefield-Gruppen A bis S und die Nicht-Lancefield-Streptokokken eingeteilt werden.<sup>1,2,3</sup> Nicht-Lancefield-Streptokokken können nicht nach Lancefield-Serotypisierung gruppiert werden und schließen ein breites Spektrum nicht-pathogener und pathogener Spezies mit *S. pneumoniae* ein, die als bedeutendster menschlicher Krankheitserreger gelten<sup>1,2,3</sup>.

Eine Reihe von Richtlinien des National Institute for Health and Care Excellence (NICE) und von Public Health England (PHE) beschreiben *S. pneumoniae* als eine der Hauptursachen für Meningitis und Blutbahninfektionen, beides invasive Erkrankungen, die mit hoher Morbidität und Mortalität einhergehen.<sup>3,4,5,6,7,8</sup> *S. pneumoniae* ist ein meldepflichtiger Organismus, was bedeutet, dass eine Infektion mit diesem Erreger von solcher klinischer Bedeutung ist, dass es gesetzlich vorgeschrieben ist, die Diagnose dieser Krankheiten an die Regierungsbehörde PHE zu melden<sup>3,9</sup>. Der Status von *S. pneumoniae* als meldepflichtiger Organismus unterstreicht die Bedeutung der Infektionsüberwachung, um zukünftige Krankheitsausbrüche zu erkennen und potenzielle Morbidität und Mortalität zu verringern<sup>10,11</sup>.

### Das Prinzip der Methode

Der Müller-Hinton-Agar wurde wegen unterschiedlicher Leistung zwischen Herstellern und Chargen des Mediums kritisiert. Diese Effekte wurden wie folgt dargestellt:

(1) Variationen der minimalen Hemmkonzentration (MHK) mit Aminoglykosiden gegen *Pseudomonas aeruginosa* und Tetracyclin gegen Staphylokokken. Dies kann auf unterschiedliche Konzentrationen der zweiwertigen Kationen von Kalzium und Magnesium zurückzuführen sein.

(2) Variationen beim Thymin- und Thymidingehalt, die die MHK-Werte von Sulfonamid und Trimethoprim beeinflussen

(3) Unterschiede bei den Eigenschaften des verwendeten Agars im Medium, insbesondere Diffusionseigenschaften

Angesichts der Kritik rief das Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (ehemals NCCLS) interessierte Hersteller zusammen, um die Standardisierung und Stabilisierung des

Supplementiertes Müller-Hinton-Agar wird sowohl vom CLSI als auch vom Europäischen Komitee für antimikrobielle Empfindlichkeitsbestimmungen (EUCAST) für das Testen nicht-anspruchsvoller Stämme empfohlen. Es werden Supplemente hinzugefügt, um die Eignung für anspruchsvollere Sorten zu ermöglichen.

### Typische Formel

	Gramm pro Liter
Rinderextrakt, dehydriert, Infusion	300,0
Casein-Hydrolysat	17,5
Stärke	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Defibriniertes Pferdeblut	50,0 ml

### Physische Erscheinung

Farbe	Signalrot
Klarheit	Undurchsichtig
Gewicht der Füllung	23,5 ± 5 %
pH	7,3 ± 0,1

### Mitgeliefertes Material

PB5303A: 10 x 90 mm Müller-Hinton-Agar mit Pferdeblut-Platten

Jede Platte sollte nur einmal verwendet werden.

### Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Beimpfen von Schleifen
- Tupfer
- Entnahmebehälter
- Inkubatoren
- Organismen für die Qualitätskontrolle

### Optionale Materialien

- Antimikrobielle Erythromycin-Suszeptibilitätstest-Discs (CT0020B)
- Antimikrobielle Cefpodoxim-Suszeptibilitätstest-Discs (CT1612B)
- Antimikrobielle Ertapenem-Suszeptibilitätstest-Discs (CT1761B)
- Antimikrobielle Moxifloxacin-Suszeptibilitätstest-Discs (CT1633B)

### Lagerung

- Lagern Sie das Produkt bis zur Verwendung in der Originalverpackung bei 2–12 °C.
- Das Produkt kann bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.
- Vor Licht geschützt aufbewahren.
- Lassen Sie das Produkt vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen.
- Vor der Verwendung nicht inkubieren.

### Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die In-vitro-Diagnostik geeignet.
- Nur für den professionellen Gebrauch.
- Überprüfen Sie die Produktverpackung vor dem ersten Gebrauch.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es sichtbare Schäden an der Verpackung oder den Platten aufweist.
- Verwenden Sie das Produkt nicht nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums.

- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es Anzeichen von Verschmutzung aufweist.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn sich die Farbe verändert hat oder andere Anzeichen einer Verschlechterung vorliegen.
- Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die anfallenden Abfälle entsprechend ihrer Art und ihres Gefährdungsgrades zu behandeln und sie in Übereinstimmung mit den auf Bundes-, Landes- und lokaler Ebene geltenden Vorschriften zu behandeln oder zu entsorgen. Die Gebrauchsanweisung sollte sorgfältig gelesen und befolgt werden. Dazu gehört auch die Entsorgung gebrauchter oder unbenutzter Reagenzien sowie aller anderen kontaminierten Einwegmaterialien gemäß den Verfahren für infektiöse oder potenziell infektiöse Produkte.

Lesen Sie das Material Sicherheitsdatenblatt (MSDB) zur sicheren Handhabung und Entsorgung des Produkts ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Schwere Zwischenfälle

Jeder schwerwiegende Zwischenfall im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Aufsichtsbehörde, in deren Zuständigkeitsbereich der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

### Entnahme, Handhabung und Lagerung von Proben

Die Proben sollten gemäß den vor Ort empfohlenen Richtlinien entnommen und behandelt werden, wie der CLSI-Norm M100<sup>10</sup>.

### Verfahren

Lassen Sie Platten und antimikrobiellen Suszeptibilitäts-Discs vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen. Die Agaroberfläche sollte vor der Inokulation keine übermäßige Feuchtigkeit aufweisen.

Das Inokulum kann entweder unter Verwendung des Wachstumsverfahrens oder des direkten Kolonieverfahrens hergestellt werden. Spezifische Richtlinien für jeden Testorganismus finden Sie in den entsprechenden DIN/CLSI-Dokumenten.

#### CLSI-Methode:

1. Wachstumsmethode:
  - a. Wählen Sie mindestens 3–5 isolierte Kolonien des gleichen Morphologietyps aus der Agarkultur aus. Berühren Sie die Oberseite jeder Kolonie mit einer Öse und übertragen Sie sie auf 4–5 ml eines geeigneten Bouillonmediums wie Trypton-Soja-Bouillon (TSB).
  - b. Inkubieren Sie die Bouillonkultur bei 35–37 °C, bis die Trübung gleich oder größer als die eines 0,5 McFarland oder eines Äquivalents ist.
  - c. Passen Sie bei Bedarf die Trübung der Suspension mit steriler Kochsalzlösung oder Bouillon an, um eine Trübung zu erreichen, die einen 0,5 McFarland-Standard erreicht. Dieser Schritt kann visuell oder unter Verwendung eines photometrischen Geräts durchgeführt werden. Verwenden Sie bei visueller Durchführung angemessenes Licht, um die Suspension mit dem 0,5 McFarland vor einer Karte mit weißem Hintergrund und kontrastierenden schwarzen Linien zu vergleichen<sup>5</sup>.
2. Direkte Koloniemethode: (Methode der Wahl bei Streptokokken und Staphylokokken).

- a. Bereiten Sie eine direkte Suspension des Testorganismus in Kochsalzlösung oder Bouillon aus einer 18- bis 24-stündigen Kultur auf nichtselektiven Medien vor.
- b. Passen Sie die Trübung der Suspension wie unter der Wachstumsmethode beschrieben an.

3. Inokulieren Sie die Agarplatten innerhalb von 15 Minuten nach der Herstellung der Keimsuspension.
4. Tauchen Sie einen sterilen Tupfer in die Suspension ein. Drehen Sie den Tupfer gegen die Seite des Röhrchens über dem Flüssigkeitsstand, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen.
5. Inokulieren Sie die Oberfläche in drei Ebenen, indem Sie die Platte jedes Mal um etwa 60 Grad drehen.
6. Setzen Sie den Deckel wieder auf und lassen Sie die Platte mindestens 3 Minuten lang, aber nicht länger als 15 Minuten auf der Laborbank ruhen, damit das Inokulum absorbiert werden kann, bevor Sie antimikrobielle Suszeptibilitätstest-Discs anwenden.
7. Wenden Sie die Discs einzeln oder mit einem antimikrobiellen Disc-Spender an. Die Disc sollte sich nicht näher als 24 mm von Zentrum zu Zentrum befinden und nicht zu nahe am Rand der Disc platziert werden. Da einige Medikamente fast augenblicklich diffundieren, verschieben Sie eine Disc nicht, sobald sie mit der Agaroberfläche in Kontakt gekommen ist. Klopfen Sie vorsichtig mit einer sterilen Nadel oder Pinzette auf die Discs, um einen vollständigen Kontakt mit der Agaroberfläche sicherzustellen.
8. Die Platte umdrehen und innerhalb von 15 Minuten nach der Anwendung der Disc in den Inkubator stellen.
  - a. Inkubieren Sie das Müller-Hinton-Agar mit Schafblutplatten, aerob, bei 35–37 °C 16–18 Stunden lang.  
**Hinweis:** Staphylokokken und Enterokokken müssen volle 24 Stunden inkubiert werden. Methicillin-resistente Staphylokokken (MRS) sind bei Inkubationstemperaturen über 35 °C möglicherweise nicht nachweisbar.
  - b. Inkubieren Sie *Streptococcus* spp. in 5–7 % CO<sub>2</sub> bei 35–37 °C 20–24 Stunden lang.
  - c. Siehe CLSI-Dokument M45 für Inkubationszeiten, Temperaturen und Atmosphären für anspruchsvolle oder selten isolierte Bakterien.<sup>19</sup>

### Interpretation

Nach 16–24 Stunden Inkubation bei 35–37 °C weisen *S. pneumoniae* typischerweise 1–2 mm große Kolonien und  $\alpha$ -Hämolyse auf Blutagar auf. *S. pneumoniae* können auch als Zeichnerkolonien mit vertieftem Zentrum und erhöhtem Rand erscheinen.

### Qualitätskontrolle

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, Qualitätskontrolltests unter Berücksichtigung der beabsichtigten Verwendung des Mediums und in Übereinstimmung mit allen vor Ort geltenden Vorschriften (Häufigkeit, Anzahl der Stämme, Inkubationstemperatur usw.) durchzuführen.

Inkubationsbedingungen: 18 ± 2 h bei 36 ± 1 °C in einer mit Kohlendioxid angereicherten Atmosphäre

Mikroorganismus	Antibiotika-Disc	Durchmesser der Hemmzone (mm)
<i>Streptokokkus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Erythromycin (E15)	26–32
	Cefpodoxim (CPD 10)	29–35
	Ertapenem (ETP 10)	28–34



	Moxifloxacin (MXF 5)	24–30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Erythromycin (E15)	10–16
	Cefpodoxim (CPD 10)	30–36
	Moxifloxacin (MXF 5)	30–36

### Beschränkungen

Organismen mit atypischen Enzymmustern können auf Müller-Hinton-Agar mit Pferdeblut anomale Reaktionen zeigen.

### Leistungsmerkmale

Die Genauigkeit wurde durch die Überprüfung der QC-Daten nachgewiesen. Der korrekte Nachweis anspruchsvoller Mikroorganismen wird durch die Aufnahme eines gut charakterisierten Isolats in die Qualitätskontrollprozesse bestätigt, die im Rahmen der Herstellung jeder Charge des Produkts durchgeführt werden. Die Präzision des Müller-Hinton-Agars mit Pferdeblut (PB5303A) wurde durch eine Gesamterfolgsrate von 99,7 % nachgewiesen, die für das Produkt über einen Zeitraum von 11 Jahren erzielt wurde (2010–2021; 3439 Chargen). Dies zeigt, dass die Leistung reproduzierbar ist.

Die Leistung wird als Durchmesser der Hemmzone bewertet, der auf dem Testmedium mit Thermo Scientific™ Oxoid™ antimikrobiellen Suszeptibilitäts-Discs gemessen wird, verglichen mit den angegebenen Durchmessern im CLSI-Standard M100<sup>10</sup>.

Das Inokulum wird aus Arbeitskulturen hergestellt, verdünnt, um die angegebenen Inokulumkonzentrationen zu erhalten, und das Testmedium wird inokuliert. Antibiotika-Discs werden in der gleichen Reihenfolge und Konzentration geladen, wie sie im Prüfplan für das Medium erscheinen. Nach einer Inkubation bei 34–36 °C 16–20 Stunden lang in 4–6 % CO<sub>2</sub> wird der Durchmesser der Hemmzone der Testorganismen gemessen und die Ergebnisse und Schlussfolgerungen können erstellt werden.

### Bibliographie

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.

9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

### Symbollegende

Symbol	Definition
	Katalognummer
	Medizinprodukt zum In-vitro-Diagnostikum
	Chargencode
	Temperaturgrenze
	Haltbarkeitsdatum
	Vom Sonnenlicht fernhalten
	Nicht wiederverwenden
	Gebrauchsanweisung oder elektronische Gebrauchsanweisung beachten
	Enthält ausreichend für <n> Tests
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist und die Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäische Union
	Europäische Konformitätsbewertung
	Konformitätsbewertung des Vereinigten Königreichs
	Eindeutige Kennung des Produkts

ATCC Licensed Derivative<sup>®</sup>

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten. ATCC und ATCC-Katalogmarken sind eine Marke der American Type Culture Collection. CLSI ist eine Marke des Clinical Laboratory and Standards Institute.

Alle anderen Marken sind Eigentum der Thermo Fisher Scientific Inc. und ihrer Tochtergesellschaften.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,  
Hampshire, RG24 8PW, England



Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Händler.

### Informationen zur Revision

Version	Ausgabedatum und vorgenommene Änderungen
1.0	2022-11-02. Neues Dokument. (LIVE)



www.thermofisher.com

# Thermo

## SCIENTIFIC

κατασκευαστές να συζητήσουν την τυποποίηση και τη σταθεροποίηση του Mueller-Hinton Agar. Καθιερώθηκαν μέθοδοι ελέγχου όπου οι κρίσιμοι συνδυασμοί αντιμικροβιακών/μικροοργανισμών έπρεπε να αποδώσουν σταθερές ζώνες αναστολής εντός δύο mm από τις καθορισμένες διαμέτρους στο πρότυπο. Το αποτέλεσμα αυτής της συμμετοχικής προσπάθειας είναι ότι το Mueller-Hinton Agar είναι πλέον ένα τυπικό μέσο.

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Προβλεπόμενη χρήση

Το Mueller-Hinton Agar with Horse Blood είναι ένα άγαρ ελέγχου αντιμικροβιακής ευαισθησίας που συνιστάται για τη μέθοδο διάχυσης δίσκου και τη δοκιμή MIC έναντι απαιτητικών μικροοργανισμών που απομονώνονται από κλινικά δείγματα.

Το ιατροτεχνολογικό προϊόν προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση, δεν είναι αυτοματοποιημένο και δεν αποτελεί συνοδευτικό διαγνωστικό μέσο.

### Περίληψη και Επεξήγηση

Οι Streptococci είναι gram-θετικοί κόκκοι που κατοικούν σε ένα ευρύ φάσμα οικολογικών κόγχων. Ποικίλουν από μη παθογόνα είδη που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία γαουρτιού, έως συμβιωτικά του στοματικού μικροβιώματος των θηλαστικών και διεισδυτικά ανθρώπινα παθογόνα<sup>1,2,3</sup>. Οι Streptococci μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τον ορότυπο με βάση τη σύνθεση υδατανθράκων του κυτταρικού τοιχώματος στις ομάδες A έως S κατά Lancefield και στους μη Lancefield στρεπτόκοκκους<sup>1,2,3</sup>. Οι μη Lancefield στρεπτόκοκκοι δεν μπορούν να ομαδοποιηθούν με τον ορότυπο κατά Lancefield και περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα μη παθογόνων και παθογόνων ειδών με το *S. pneumoniae* να θεωρείται το πιο σημαντικό ανθρώπινο παθογόνο<sup>1,2,3</sup>.

Ορισμένες οδηγίες του National Institute for Health and Care Excellence (NICE) and Public Health England (PHE) περιγράφουν το *S. pneumoniae* ως μία από τις κύριες αιτίες μηνιγγίτιδας και λοιμώξεων της κυκλοφορίας του αίματος, με τις δύο δεισδυτικές ασθένειες να σχετίζονται με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. Το *S. pneumoniae* είναι ένας μικροοργανισμός με απαίτηση δήλωσης, πράγμα που σημαίνει ότι η λοίμωξη με αυτό το παθογόνο είναι τόσο υψηλής κλινικής σημασίας που απαιτείται από το νόμο η αναφορά της διάγνωσης αυτών των ασθενειών στην κρατική αρχή PHE<sup>3,9</sup>. Το καθεστώς του *S. pneumoniae* ως μικροοργανισμός που δηλώνεται, υπογραμμίζει τη σημασία της επιτήρησης των λοιμώξεων για τον εντοπισμό μελλοντικών επιδημιών και τη μείωση της πιθανής νοσηρότητας και θνησιμότητας<sup>10,11</sup>.

### Αρχή της μεθόδου

Το Mueller-Hinton Agar έχει επικριθεί λόγω της διακύμανσης στην απόδοση μεταξύ των κατασκευαστών και των παρτίδων του μέσου. Αυτές οι επιδράσεις εκφράστηκαν ως:

(1) Διακυμάνσεις ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) με αμινογλυκοσίδες έναντι *Pseudomonas aeruginosa* και τετρακυκλίνης έναντι *Staphylococci*. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις των δισθενών κατιόντων ασβεστίου και μαγνησίου.

(2) Διακύμανση στην περιεκτικότητα σε θυμίνη και θυμιδίνη, που επηρεάζουν τις τιμές MIC σουλφοναμίδης και τριμεθοπρίμης

(3) Διαφορές στα χαρακτηριστικά του άγαρ που χρησιμοποιείται στο μέσο, ιδιαίτερα στις ιδιότητες διάχυσης

Υπό το πρίσμα της κριτικής που ασκήθηκε, το Ινστιτούτο Κλινικών Εργαστηριακών Προτύπων (CLSI) (προηγούμενος NCCLS) κάλεσε τους ενδιαφερόμενους

Το συμπληρωμένο Mueller-Hinton Agar συνιστάται τόσο από το CLSI όσο και από το European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) για δοκιμές αντιμικροβιακής ευαισθησίας μη απαιτητικών στελεχών. Τα συμπληρώματα προστίθενται ώστε να καταστεί κατάλληλο για πιο απαιτητικά στελέχη.

### Τυπική σύνθεση

	γραμμάρια ανά λίτρο
Βόειο, αφυδατωμένο έγχυμα από	300,0
Υδρόλυμα καζεΐνης	17,5
Άμυλο	1,5
NAD	0,02
Άγαρ	17,0
Απινιδωμένο αίμα αλόγου	50,0 ml

### Εξωτερική εμφάνιση

Χρώμα	Κόκκινο
Διάυγεια	Θολότητα
Συμπλήρωση βάρους	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Υλικά που Παρέχονται

PB5303A: Τρυβλία άγαρ Mueller Hinton με αίμα αλόγου 10 x 90 mm

Κάθε τρυβλίο πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο μία φορά.

### Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Κρίκοι ενοφθαλμισμού
- Στυλεοί
- Δοχεία συλλογής
- Επωαστήρες
- Μικροοργανισμοί ποιοτικού ελέγχου

### Προαιρετικά Υλικά

- Δίσκοι δοκιμής αντιμικροβιακής ευαισθησίας ερυθρομυκίνης (CT0020B)
- Δίσκοι δοκιμής αντιμικροβιακής ευαισθησίας κεφποδοξίμης (CT1612B)
- Δίσκοι δοκιμής αντιμικροβιακής ευαισθησίας ερταπενέμης (CT1761B)
- Δίσκοι δοκιμής αντιμικροβιακής ευαισθησίας μοξιφλοξασίνης (CT1633B)

### Αποθήκευση

- Αποθηκεύστε το προϊόν στην αρχική του συσκευασία στους 2-12 °C μέχρι τη χρήση του.
- Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.
- Φυλάσσετε μακριά από το φως.
- Αφήστε το προϊόν να ισοροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
- Μην επωάζετε πριν από τη χρήση.

### Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Μόνο για in vitro διαγνωστική χρήση.
- Μόνο για επαγγελματική χρήση.
- Επιθεωρήστε τη συσκευασία του προϊόντος πριν από την πρώτη χρήση.
- Μην χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν υπάρχει ορατή ζημιά στη συσκευασία ή στα τρυβλία.

- Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν πέρα από την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε το ιατροτεχνολογικό προϊόν εάν υπάρχουν σημάδια επιμόλυνσης.
- Μη χρησιμοποιείτε το ιατροτεχνολογικό προϊόν εάν το χρώμα έχει αλλάξει ή υπάρχουν άλλα σημάδια φθοράς.
- Είναι ευθύνη κάθε εργαστηρίου να διαχειρίζεται τα απόβλητα που παράγονται σύμφωνα με τη φύση και τον βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα αντιμετωπίζει ή να τα απορρίπτει σύμφωνα με τους ομοσπονδιακούς πολιτειακούς και τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς. Οι οδηγίες πρέπει να διαβάζονται και να ακολουθούνται προσεκτικά. Αυτό περιλαμβάνει την απόρριψη χρησιμοποιημένων ή αχρησιμοποίητων αντιδραστηρίων καθώς και οποιοδήποτε άλλου μολυσμένου υλικού μιας χρήσης, ακολουθώντας διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικά μολυσματικά προϊόντα.

Ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφάλειας Υλικού (MSDS) για ασφαλή χειρισμό και απόρριψη του προϊόντος στη διεύθυνση ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Σοβαρά Συμβάντα

Κάθε σοβαρό συμβάν που έχει προκύψει σε σχέση με το ιατροτεχνολογικό προϊόν πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην σχετική ρυθμιστική αρχή του κράτους στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

### Συλλογή, χειρισμός και αποθήκευση

#### Δειγμάτων

Τα δείγματα πρέπει να συλλέγονται και να χειρίζονται σύμφωνα με τις τοπικές συνιστώμενες οδηγίες, όπως το πρότυπο του CLSI M100<sup>10</sup>.

#### Διαδικασία

Αφήστε τα τρυβλία και τους δίσκους αντιμικροβιακής ευαισθησίας να εξισορροπηθούν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Η επιφάνεια του άγαρ δεν πρέπει να έχει υπερβολική υγρασία πριν από τον ενοφθαλμισμό. Το ενοφθαλμισμα μπορεί να παρασκευαστεί χρησιμοποιώντας είτε τη μέθοδο ανάπτυξης είτε την άμεση διαδικασία αποικιών. Ανατρέξτε στα κατάλληλα έγγραφα DIN/CLSI για οδηγίες ειδικές για κάθε μικροοργανισμό υπό εξέταση

### Μέθοδος CLSI:

1. Μέθοδος ανάπτυξης:
  - a. Επιλέξτε τουλάχιστον 3-5 απομονωμένες αποικίες του ίδιου τύπου μορφολογίας από την καλλιέργεια άγαρ. Αγγίξτε το επάνω μέρος κάθε αποικίας με ένα κρίκο και μεταφέρετε σε 4-5 ml μέσο ενός κατάλληλου ζωμού, όπως το Tryptic Soy Broth (TSB)
  - b. Επώαστε την καλλιέργεια ζωμού στους 35-37 °C έως ότου η θολότητα ισούται ή υπερβαίνει αυτή ενός προτύπου 0,5 της κλίμακας McFarland ή ισοδύναμου.
  - c. Εάν είναι απαραίτητο, ρυθμίστε τη θολότητα του εναιωρήματος με στείρο φυσιολογικό ορό ή ζωμό για να έχετε θολότητα ώστε να επιτευχθεί θολότητα ενός προτύπου 0,5 της κλίμακας McFarland. Αυτό το βήμα μπορεί να πραγματοποιηθεί οπτικά ή χρησιμοποιώντας φωτομετρική συσκευή. Εάν εκτελεστεί οπτικά, χρησιμοποιήστε επαρκές φωτισμό για να συγκρίνετε το εναιώρημα με το πρότυπο 0,5 της κλίμακας McFarland σε μια κάρτα με λευκό φόντο και μαύρες γραμμές αντίθεσης<sup>5</sup>.
2. Άμεση μέθοδος αποικιών: (Μέθοδος εκλογής για στρεπτόκοκκους και σταφυλόκοκκους).

- a. Παρασκευάστε ένα άμεσο εναιώρημα του εξεταζόμενου μικροοργανισμού σε φυσιολογικό ορό ή ζωμό από καλλιέργεια 18-24 ωρών σε μη εκλεκτικά μέσα.
  - b. Ρυθμίστε τη θολότητα του εναιωρήματος όπως περιγράφεται στη μέθοδο ανάπτυξης.
3. Ενοφθαλμίστε τα τρυβλία άγαρ εντός 15 λεπτών από την παρασκευή του εναιωρήματος του μικροοργανισμού.
  4. Βυθίστε ένα αποστειρωμένο στυλεό στο εναιώρημα. Περιστρέψτε τον στυλεό στην πλευρά του σωλήνα πάνω από τη στάθμη του υγρού για να αφαιρέσετε την περίσσεια υγρού.
  5. Ενοφθαλμίστε την επιφάνεια σε τρία επίπεδα περιστρέφοντας το τρυβλίο περίπου 60 μοίρες κάθε φορά.
  6. Επανατοποθετήστε το καπάκι και αφήστε το τρυβλίο να παραμείνει στον πάγκο για τουλάχιστον 3 λεπτά αλλά όχι περισσότερο από 15 λεπτά προκειμένου να απορροφηθεί το ενοφθαλμισμα, πριν εφαρμόσετε τους δίσκους αντιμικροβιακής ευαισθησίας.
  7. Εφαρμόστε τους δίσκους μεμονωμένα ή χρησιμοποιώντας διανομέα αντιμικροβιακών δίσκων. Ο δίσκος δεν πρέπει να είναι πιο κοντά από 24 mm από κέντρο σε κέντρο και να μην τοποθετείται πολύ κοντά στην άκρη του τρυβλίου. Επειδή κάποιο φάρμακο διαχέεται σχεδόν ακαριαία, μην μετακινήσετε τον δίσκο αφού έχει έρθει σε επαφή με την επιφάνεια του άγαρ. Χτυπήστε τους δίσκους απαλά με αποστειρωμένη βελόνα ή λαβίδα για να εξασφαλίσετε την πλήρη επαφή με την επιφάνεια του άγαρ.
  8. Αναποδογυρίστε το τρυβλίο και τοποθετήστε το στον επωαστήρα εντός 15 λεπτών από την εφαρμογή του δίσκου.
    - a. Επώαστε τα τρυβλία Mueller-Hinton Agar with Sheep Blood αερόβια στους 35-37 °C για 16-18 ώρες.  
**Σημείωση:** Οι σταφυλόκοκκοι και οι εντερόκοκκοι απαιτούν τη συμπλήρωση 24ωρης επώασης. Οι σταφυλόκοκκοι που είναι ανθεκτικοί στη μεθικιλίνη (MRS) μπορεί να μην ανιχνευθούν σε θερμοκρασίες επώασης πάνω από 35 °C.
    - b. Επώαστε *Streptococcus* spp. σε 5-7% CO<sub>2</sub> στους 35-37 °C για 20-24 ώρες.
    - c. Ανατρέξτε στο έγγραφο CLSI M45 για χρόνους επώασης, θερμοκρασίες και ατμόσφαιρες για απαιτητικούς ή σπάνια απομονωμένα βακτήρια<sup>19</sup>.

### Ερμηνεία

Μετά από 16-24 ώρες επώασης στους 35-37 °C, το *S. pneumoniae* τυπικά παρουσιάζει αποικίες 1-2 mm και παρουσιάζει α-αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ. Το *S. pneumoniae* μπορεί επίσης να εμφανιστεί ως δακτυλιοειδείς αποικίες «daughtsman colonies» με πιασμένο κέντρο και υπερυψωμένο χείλος.

### Έλεγχος ποιότητας

Είναι ευθύνη του χρήστη να πραγματοποιήσει δοκιμές Ποιοτικού Ελέγχου λαμβάνοντας υπόψη την προβλεπόμενη χρήση του μέσου και σύμφωνα με τυχόν τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς (συχνότητα, αριθμός στελεχών, θερμοκρασία επώασης κ.λπ.).

Συνθήκες επώασης: 18 ± 2 ώρες στους 36 ± 1 °C σε ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με διοξείδιο του άνθρακα

Μικροοργανισμός	Αντιβιοτικός δίσκος	Διάμετρος ζώνης αναστολής (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC®49619	Ερυθρομυκίνη (E15)	26-32
	Κεφποδοξίμη (CPD 10)	29-35
	Ερταπενέμη (ETP 10)	28-34
	Μοξιφλοξασίνη (MXF 5)	24-30

<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®49766	Ερυθρομικίνη (E15)	10-16
	Κεφθοδοξίμη (CPD 10)	30-36
	Μοξιφλοξασίνη (MXF 5)	30-36

### Περιορισμοί

Οι μικροοργανισμοί με άτυπα πρότυπα ενζύμων μπορεί να προκαλέσουν ανώμαλες αντιδράσεις στο Mueller-Hinton Agar with Horse Blood.

### Χαρακτηριστικά απόδοσης

Η ακρίβεια έχει αποδειχθεί μέσω της ανασκόπησης των δεδομένων ποιοτικού ελέγχου. Η σωστή ανίχνευση των απαιτητικών μικροοργανισμών επιβεβαιώνεται με τη συμπερίληψη καλά χαρακτηρισμένων απομονωθέντων στελεχών στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου (QC) που εκτελούνται ως μέρος της κατασκευής κάθε παρτίδας του ιατροτεχνολογικού προϊόντος. Η ακρίβεια του Mueller-Hinton Agar with Horse Blood (PB5303A) αποδείχθηκε από ένα συνολικό ποσοστό επιτυχίας 99,7% που επιτεύχθηκε για το προϊόν σε περίοδο 11 ετών (2010-2021, 3.439 παρτίδες). Αυτό δείχνει ότι η απόδοση είναι αναπαραγωγίμη.

Η απόδοση αξιολογείται από τη διάμετρο της ζώνης αναστολής που μετρήθηκε στο μέσο δοκιμής χρησιμοποιώντας δίσκους αντιμικροβιακής ευαισθησίας Thermo Scientific™ Oxoid™, σε σύγκριση με τις καθορισμένες διαμέτρους στο πρότυπο CLSI M100<sup>10</sup>.

Το ενοφθάλμισμα παρασκευάζεται από καλλιέργειες εργασίας, αραιώνεται για να ληφθούν τα καθορισμένα επίπεδα ενοφθαλμίσματος και το μέσο δοκιμής ενοφθαλμίζεται. Οι δίσκοι αντιβιοτικών τοποθετούνται με την ίδια σειρά και συγκεντρώσεις όπως εμφανίζονται στο σχέδιο επιθεώρησης για το μέσο. Μετά από επώαση στους 34-36 °C για 16-20 ώρες σε 4-6% CO<sub>2</sub>, μετράται η διάμετρος της ζώνης αναστολής των υπό δοκιμή οργανισμών και μπορούν να εξαχθούν τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα.

### Βιβλιογραφία

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. “Streptococcus.” In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. “Streptococcus Pneumoniae.” In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. “Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms.” UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. “Investigation of Ear Infections and Associated Specimens.” UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. “Fever in under 5s: Assessment and Initial Management.”
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. “Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management.”
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. “SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi.”
8. Public Health England. 2016. “Investigation of Pus and Exudates.” UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. “Statutory Notification by Registered Medical Practitioners

### Υπόμνημα συμβόλων

Σύμβολο	Ορισμός
	Αριθμός καταλόγου
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό Προϊόν
	Κωδικός παρτίδας
	Όριο θερμοκρασίας
	Ημερομηνία λήξης
	Φυλάσσετε μακριά από το ηλιακό φως
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης ή συμβουλευτείτε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	Περιέχει επαρκή αριθμό για <n> δοκιμές
	Μην το χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία είναι κατεστραμμένη και συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Κατασκευαστής
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα Ευρωπαϊκή Ένωση
	Ευρωπαϊκή Αξιολόγηση Συμμόρφωσης
	Αξιολογήθηκε η Συμμόρφωση του Ηνωμένου Βασιλείου
	Μοναδικό αναγνωριστικό ιατροτεχνολογικού προϊόντος

ATCC Licensed Derivative<sup>®</sup>

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Τα σύμβολα καταλόγου ATCC και ATCC αποτελούν εμπορικό σήμα της American Type Culture Collection. Το CLSI είναι εμπορικό σήμα του Clinical Laboratory and Standards Institute.

Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία της Thermo Fisher Scientific Inc. και των θυγατρικών της.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,  
Hampshire, RG24 8PW, H.B.



Για τεχνική βοήθεια, επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα σας.

### Πληροφορίες αναθεώρησης

Έκδοση	Ημερομηνία έκδοσης και τροποποιήσεις που εισήχθησαν
1.0	2022-11-02. Νέο έγγραφο. (LIVE)



## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

**REF PB5303A**

### Rendeltetészerű használat

A Mueller-Hinton agar lóvérrrel egy antimikrobiális érzékenységi agar, amelyet a klinikai mintákból izolált érzékeny mikroorganizmusok elleni korongdiffúziós és MIC-vizsgálatokhoz ajánlanak.

A termék nem automatizált, kizárólag professzionális használatra szolgál, és nem egy kapcsolt diagnosztikai eszköz.

### Összefoglalás és magyarázat

A sztreptokokuszok Gram-pozitív kokkusok, amelyek az ökológiai fülkék széles skáláján megélnak, a joghurtgyártásban használt nem patogén fajoktól kezdve az emlíősök szájüregi mikrobiomjának kommenzális tagjain át az invazív humán patogéneig<sup>1,2,3</sup>. A sztreptokokuszok a sejtfal szénhidrát-összetétele alapján szerotipizálással a Lancefield-csoportokba (A-S) és a nem-Lancefield sztreptokokuszok közé sorolhatók<sup>1,2,3</sup>. A nem-Lancefield sztreptokokuszok nem csoportosíthatók a Lancefield-féle szerotipizálással, és a nem patogén és patogén fajok széles skáláját foglalják magukban, a *S. pneumoniae* kórokozót tartják a legjelentősebb emberi kórokozónak<sup>1,2,3</sup>.

A National Institute for Health and Care Excellence (NICE) és a Public Health England (PHE) számos iránymutatása a *S. pneumoniae* kórokozót az agyhártyagyulladás és a véráramfertőzések egyik vezető okaként említi, mindkét invazív betegség magas morbiditással és mortalitással jár<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. A *S. pneumoniae* bejelentési kötelezettség alá tartozó mikroorganizmusok, ami azt jelenti, hogy az ezzel a kórokozóval való fertőzés olyan klinikai jelentőséggel bír, hogy a törvény értelmében ezen betegségek diagnosztizát jelenteni kell a PHE kormányzati hatóságnak<sup>3,9</sup>. A *S. pneumoniae* bejelentési kötelezettség alá eső státusza kiemeli a fertőzésfelügyelet fontosságát a jövőbeli járványkitörések azonosításában és a lehetséges megbetegedések és halálozás csökkentésében<sup>10,11</sup>.

### A módszer elve

A Mueller-Hinton Agart kritika érte, mivel a táptalaj gyártói és tételei között teljesítménybeli eltérések vannak. Ezek a hatások a következők voltak:

- (1) A minimális gátlási koncentráció (MIC) változása aminoglikozidokkal a *Pseudomonas aeruginosa* ellen és tetraciklinnel a *Staphylococcus* ellen. Ennek oka a divalens kationok, a kalcium és a magnézium eltérő koncentrációja lehetett.
- (2) A timin- és timidintartalom változása, amely befolyásolja a szulfonamid és trimetoprim MIC-értékeket
- (3) A táptalajban használt agar jellemzőiben, különösen a diffúziós tulajdonságokban mutatkozó különbségek

A kritikák fényében a Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (korábban NCCLS) összehívta az érdektelt gyártókat, hogy megvitassák a Mueller-Hinton Agar szabványosítását és stabilizálását. Olyan ellenőrzési módszereket állapítottak meg, amelyek szerint a kritikus fontosságú antimikrobiális szer/mikroorganizmus kombinációknak következetes átmérőjű gátlási zónák kell eredményezniük a szabványban meghatározott átmérőhöz képest két mm-en belül. Ennek az együttműködésnek az eredménye, hogy a Mueller-Hinton Agar ma már szabványos táptalaj.

A CLSI és a European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) egyaránt ajánlja a nem érzékeny törzsek vizsgálatára a kiegészített Müller-Hinton Agart. Kiegészítőket adnak hozzá, hogy alkalmassá tegyék az érzékenyebb törzsek számára.

### Tipikus képlet

	gramm/liter
Marhahúsból származó dehidratált infúzió	300,0
Kazein-hidrolizátum	17,5
Keményítő	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Defibrinált lóvér	50,0 ml

### Fizikai megjelenés

Szín	Szignálvörös
Tisztaság	Átlátszatlan
Töltési tömeg	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Rendelkezésre bocsátott anyagok

PB5303A: 10 x 90 mm-es Mueller Hinton agar lóvérlémezekkel

Minden lemezt csak egyszer szabad használni.

### Szükséges, de nem mellékelt anyagok

- Oltókacsok
- Mintavevő palcák
- Gyűjtőedények
- Inkubátorok
- Minőség-ellenőrzési mikroorganizmusok

### Választható anyagok

- Eritromicin antimikrobiális érzékenységi korongok (CT0020B)
- Cefpodoxime antimikrobiális érzékenységi korongok (CT1612B)
- Ertapenem antimikrobiális érzékenységi korongok (CT1761B)
- Moxifloxacin antimikrobiális érzékenységi korongok (CT1633B)

### Tárolás

- A terméket felhasználásig eredeti csomagolásában, 2–12 °C-on tárolja.
- A termék a címkén feltüntetett lejáratú időpontig használható fel.
- Fénytől védve tárolja.
- Használat előtt hagyja, hogy a termék átvegye a szobahőmérsékletet.
- Használat előtt ne inkubálja.

### Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Kizárólag in vitro diagnosztikai felhasználásra.
- Kizárólag professzionális használatra.
- Az első használat előtt ellenőrizze a termék csomagolását.
- Ne használja a terméket, ha a csomagoláson vagy a lemezeken látható sérülések vannak.
- Ne használja a terméket a megadott lejáratú időn túl.
- Ne használja a terméket, ha szennyeződésre utaló jelek vannak jelen.
- Ne használja az eszközt, ha a színe megváltozott, vagy ha a károsodás egyéb jelei mutatkoznak.
- Minden laboratórium felelőssége, hogy a keletkező hulladékokat jellegük és veszélyességi fokuk szerint kezelje, és azokat a szövetségi, állami és helyi előírásoknak megfelelően kezelje vagy ártalmatlanítsa. Az utasításokat gondosan

el kell olvasni és követni kell. Ez magában foglalja a használt vagy fel nem használt reagensek, valamint bármely más szennyezett eldobható anyag ártalmatlanítását a fertőző vagy potenciálisan fertőző termékekre vonatkozó eljárások szerint.

A termék biztonságos kezelésével és ártalmatlanításával kapcsolatban olvassa el az anyagbiztonsági adatlapot (MSDS) itt: [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com).

### Súlyos események

Az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg lakhelye szerinti állam illetékes szabályozhatóságának.

### Mintavétel, kezelés és tárolás

A mintákat a helyi ajánlott iránymutatások, például a CLSI Standard M100<sup>10</sup> szerint kell levenni és kezelni.

### Eljárás

Használat előtt hagyja, hogy a lemezek és az antimikrobiális érzékenységi korongok felvegyék a szobahőmérsékletet. Az agar felületén az inokulálás előtt nem lehet felesleges nedvesség.

Az inokulációt a szaporítási módszer vagy a közvetlen telepítési módszer alkalmazásával lehet előállítani. Az egyes vizsgálati mikroorganizmusokra vonatkozó egyedi iránymutatásokért lásd a megfelelő DIN/CLSI dokumentumokat

### CLSI-módszer:

- Szaporítási módszer:
  - Válasszon ki legalább 3–5 azonos morfológiájú izolált telepet az agartenyésztéskből. Érintse meg az egyes telepek tetejét egy kaccsal, és helyezze át 4–5 ml megfelelő táptalajba, például triptikus szójaszójás táplevesbe (TSB)
  - Inkubálja a táptalajt 35–37 °C-on, amíg a zavarosság eléri vagy meghaladja a 0,5 McFarland vagy azzal egyenértékű értéket.
  - Ha szükséges, állítsa be a szuszpenzió zavarosságát steril sóoldattal vagy táplevessel, hogy elérje a 0,5 McFarland szabványnak megfelelő zavarosságot. Ez a lépés vizuálisan vagy fotometrikus eszközzel is elvégezhető. Ha vizuálisan végzi el, megfelelő fényviszonyok mellett hasonlítsa össze a szuszpenziót a McFarland 0,5 értékkel egy fehér hátterű, kontrasztos fekete vonalakkal ellátott kártyán<sup>5</sup>.
- Közvetlen telepítési módszer: (A sztreptokokkuszkok és sztafilokokkuszkok esetében választott módszer).
  - Készítsen közvetlen szuszpenziót a vizsgált mikroorganizmusból sóoldatban vagy táplevesben 18–24 órás tenyésztéskből nem szelektív táptalajon.
  - Állítsa be a szuszpenzió zavarosságát a szaporítási módszernél leírtak szerint.
- Az agarlemezeket a mikroorganizmus-suszpenzió elkészítését követően 15 percen belül inokulálja.
- Merítsen egy steril mintavevő pálcát a szuszpenzióba. A felesleges folyadék eltávolítása érdekében forgassa a mintavevő pálcát a cső oldalához nyomva a folyadékszint felett.
- Inokulálja a felületet három síkban, a lemezt minden alkalommal körülbelül 60 fokkal elforgatva.
- Helyezze vissza a fedelet, és hagyja a lemezt legalább 3 percig, de legfeljebb 15 percig a padon pihenni, hogy az inokuláció felszívódjon, mielőtt antimikrobiális érzékenységi korongokat alkalmazna.

- Alkalmazza a korongokat egyenként vagy antimikrobiális korongadagolóval. A korongok nem lehetnek 24 mm-nél közelebb a középponttól a középpontig mérve, és nem lehetnek túl közel a lemez széléhez. Mivel egyes gyógyszerek szinte azonnal diffundálnak, ne helyezze át a korongot, ha az egyszer már érintkezett az agarfelülettel. A korongokat steril tűvel vagy csipesszel óvatosan kopogtassa meg, hogy biztosítsa a teljes érintkezést az agarfelülettel.
- A lemezt a korong alkalmazását követően 15 percen belül fordítsa meg és helyezze az inkubátorba.
  - Inkubálja a Mueller-Hinton Agar with Sheep Blood lemezeit aerob módon 35–37 °C-on 16–18 órán át.  
**Megjegyzés:** A sztafilokokkuszkok és enterokokkuszkok teljes 24 órás inkubációt igényelnek. A meticillinrezisztens sztafilokokkuszkok (MRS) 35 °C feletti inkubációs hőmérsékleten nem mutathatók ki.
  - Inkubálja a *Streptococcus* spp.-t 5–7% CO<sub>2</sub>-ban 35–37 °C-on 20–24 órán keresztül.
  - Az érzékeny vagy ritkán izolált baktériumok inkubációs idejét, hőmérsékletét és légkörét illetően lásd a CLSI M45 dokumentumot<sup>19</sup>.

### Értelmezés

16–24 órás 35–37 °C-on történő inkubáció után a *S. pneumoniae* általában 1–2 mm-es telepeket és  $\alpha$ -hemolízist mutat véragaron. A *S. pneumoniae* Draughtsman-telepek formájában is megjelenhet, amelyeknek a közepe süllyedt és a pereme emelkedett.

### Minőség-ellenőrzés

A felhasználó felelőssége, hogy a minőség-ellenőrzési vizsgálatokat a táptalaj tervezett felhasználásának figyelembevételével és a helyi előírásoknak megfelelően végezze el (gyakoriság, törzsek száma, inkubációs hőmérséklet stb.).

Inkubációs körülmények: 18 ± 2 óra, 36 ± 1 °C-on, széndioxid-dúsított atmoszférában

Mikroorganizmus	Antibiotikum-korong	Gátlási zóna átmérője (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Eritromicin (E15)	26-32
	Cefpodoxime (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacin (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Eritromicin (E15)	10-16
	Cefpodoxime (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacin (MXF 5)	30-36

### Korlátozások

Az atipikus enzimintázattal rendelkező mikroorganizmusok rendellenes reakciókat adhatnak a Mueller-Hinton Agar with Horse Blood táptalajon.

### Teljesítményjellemzők

A pontosságot a minőségellenőrzési adatok felülvizsgálata bizonyította. Az érzékeny mikroorganizmusok helyes felismerésének megerősítéséhez egy jól jellemzett izolátum vizsgálatára kerül sor az eszköz minden egyes tétele gyártásának részeként végzett minőség-ellenőrzési folyamatok során. A Mueller-Hinton Agar with Horse Blood (PB5303A) precizitását a termék 11 éves időszaka (2010–2021; 3439 tétel) alatt elért 99,7%-os általános megfelelési arányával igazolták. Ez azt mutatja, hogy a teljesítmény reprodukálható.



A teljesítményt a Thermo Scientific™ Oxoid™ antimikrobiális érzékenységi korongok segítségével a tesztáptalajban mért gátlási zóna átmérőjeként értékeli, összehasonlítva a CLSI M100 szabványban meghatározott átmérőkkel<sup>10</sup>.

Az inokulumot munkatényeszetekből készítjük, hígítjuk, hogy elérjük az előírt inokulumszintet, majd inokuláljuk a tesztáptalajt. A táptalaj vizsgálati tervében meghatározott sorrendben és koncentrációban antibiotikum-korongokat teszünk bele. A 34–36 °C-on, 4–6%-os CO<sub>2</sub>-ben 16–20 órán át tartó inkubációt követően mérje meg a tesztorganizmusok gátlási zónájának átmérőjét, és elkészítheti az eredményeket és a következtetéseket.

## Bibliográfia

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

## Szimbólum-magyarázat

Szimbólum	Meghatározás
	Katalógusszám
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Tételkód
	Hőmérsékleti határérték
	Felhasználhatósági idő

	Napfénytől védve tárolja.
	Ne használja fel újra
	Tájékozódjon a használati utasításból vagy az elektronikus használati utasításból
	<n> vizsgálathoz elegendőt tartalmaz
	Ne használja, ha a csomagolás sérült, és olvassa el a használati utasítást
	Gyártó
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban
	Európai megfelelőségértékelés
	Brit megfelelőségértékelés
	Egyedi eszközazonosító



©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Minden jog fenntartva. Az ATCC és az ATCC katalógusjelek az American Type Culture Collection védjegyei.

A CLSI a Clinical Laboratory and Standards Institute védjegye.

Minden más védjegy a Thermo Fisher Scientific Inc. és leányvállalatai tulajdonát képezi.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Anglia



Műszaki segítségért forduljon a helyi forgalmazóhoz.

## Felülvizsgálati információk

Verzió	A kiadás időpontja és a bevezetett módosítások
1.0	2022-11-02. Új dokumentum. (ÉLŐ)



www.thermofisher.com

# Thermo

## SCIENTIFIC

L'agar Mueller-Hinton integrato è raccomandato da CLSI e dal Comitato europeo per i test di sensibilità ad antibiotici (EUCAST) per i test su ceppi non esigenti. Gli integratori vengono aggiunti per renderlo adatto a ceppi più esigenti.

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

**[REF] PB5303A**

### Usò previsto

L'agar Mueller-Hinton con sangue di cavallo è un agar con sensibilità ad antibiotici raccomandato per i test di diffusione su disco e MIC su microrganismi esigenti isolati da campioni clinici.

Il dispositivo è solo per uso professionale, non è automatizzato e non è da considerarsi un test diagnostico di accompagnamento.

### Riepilogo e spiegazione

Gli streptococchi sono cocchi Gram-positivi che occupano un'ampia gamma di nicchie ecologiche, dalle specie non patogene utilizzate nell'industria dello yogurt, ai membri commensali del microbioma orale dei mammiferi e ai patogeni umani invasivi<sup>1,2,3</sup>. Gli streptococchi possono essere classificati mediante la sierotipizzazione basata sulla composizione dei carboidrati della parete cellulare nei gruppi di Lancefield da A a S e negli streptococchi non di Lancefield<sup>1,2,3</sup>. Gli streptococchi non di Lancefield non possono essere raggruppati in base alla sierotipizzazione di Lancefield e comprendono un'ampia gamma di specie non patogene e patogene di cui *S. pneumoniae* è considerato l'agente patogeno umano più significativo<sup>1,2,3</sup>.

Una serie di linee guida del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) e di Public Health England (PHE) indicano *S. pneumoniae* come una delle principali cause di meningite e infezioni del flusso sanguigno, entrambe malattie invasive associate a elevate morbilità e mortalità<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* è un organismo soggetto a notifica, il che significa che l'infezione da questo patogeno ha un significato clinico tale per cui è richiesto per legge di segnalare la diagnosi di queste malattie all'autorità governativa PHE<sup>3,9</sup>. Lo stato di *S. pneumoniae* come organismo soggetto a notifica sottolinea l'importanza della sorveglianza delle infezioni per identificare futuri focolai di malattie e ridurre la potenziale morbilità e mortalità<sup>10,11</sup>.

### Principio del metodo

L'agar Mueller-Hinton è stato fabbricato a causa della variazione delle prestazioni tra fabbricanti e lotti di terreno. Questi effetti si sono rivelati come:

- (1) Variazioni della concentrazione minima inibitoria (MIC) con aminoglicosidi contro *Pseudomonas aeruginosa* e tetraciclina contro Stafilococchi. Ciò potrebbe essere dovuto alle diverse concentrazioni dei cationi bivalenti di calcio e magnesio.
- (2) Variazione del contenuto di timina e timidina, che influiscono sui valori di MIC sulfonamidico e trimetoprim.
- (3) Differenze nelle caratteristiche dell'agar utilizzato nel terreno, in particolare nelle proprietà di diffusione.

Alla luce delle critiche, il Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (precedentemente NCCLS) ha convocato i fabbricanti interessati per discutere la standardizzazione e la stabilizzazione dell'agar Mueller-Hinton. Sono stati stabiliti metodi di controllo in base ai quali le combinazioni critiche antimicrobico/organismo dovevano produrre zone di inibizione coerenti entro due mm dai diametri specificati nello standard. Il risultato di questo sforzo di cooperazione è che l'agar Mueller-Hinton è ora un terreno standard.

### Formula tipica

	grammi per litro
Manzo, infuso disidratato di	300,0
Caseina idrolizzata	17,5
Amido	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Sangue di cavallo defibrinato	50,0 ml

### Aspetto fisico

Colore	Rosso segnale
Chiarezza	Opaco
Peso di riempimento	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Materiali forniti

PB5303A: 10 piastre da 90 mm di agar Mueller Hinton con sangue di cavallo

Ciascuna piastra è monouso.

### Materiali necessari ma non forniti

- Anse da inoculo
- Tamponi
- Contenitori di raccolta
- Incubatrici
- Organismi per il controllo della qualità

### Materiali opzionali

- Dischi per test di sensibilità ad antibiotici all'eritromicina (CT0020B)
- Dischi per test di sensibilità ad antibiotici alla cefpodoxima (CT1612B)
- Dischi per test di sensibilità ad antibiotici all'ertapenem (CT1761B)
- Dischi per test di sensibilità ad antibiotici alla moxifloxacina (CT1633B)

### Conservazione

- Conservare il prodotto nella sua confezione originale a 2-12 °C fino al suo utilizzo.
- Il prodotto può essere utilizzato fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.
- Conservare lontano dalla luce.
- Permettere al prodotto di equilibrarsi a temperatura ambiente prima dell'uso.
- Non incubare prima dell'uso.

### Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- Solo per uso professionale.
- Ispezionare la confezione del prodotto prima del primo utilizzo.
- Non utilizzare il prodotto se sono presenti danni visibili all'imballaggio o alle piastre.
- Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare il dispositivo se sono presenti segni di contaminazione.
- Non utilizzare il dispositivo se il colore è cambiato o se sono presenti altri segni di deterioramento.
- È responsabilità di ciascun laboratorio gestire i rifiuti prodotti in base alla loro natura e al grado di rischio e farli trattare o smaltire in conformità alle normative federali, statali e locali applicabili. Leggere e attenersi scrupolosamente alle istruzioni. Questo include lo smaltimento dei

reagenti utilizzati o non utilizzati, nonché di qualsiasi altro materiale monouso contaminato secondo le procedure per prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

Fare riferimento alla scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) per la manipolazione e lo smaltimento sicuri del prodotto ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

## Incidenti gravi

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente del Paese in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente.

## Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni

I campioni devono essere raccolti e manipolati conformemente alle linee guida locali raccomandate localmente, come lo standard CLSI M100<sup>10</sup>.

## Procedura

Consentire alle piastre e ai dischi di sensibilità ad antibiotici di equilibrarsi a temperatura ambiente prima dell'uso. La superficie dell'agar non deve presentare umidità in eccesso prima dell'inoculazione.

L'inoculo può essere preparato utilizzando il metodo di crescita o il metodo della colonia diretta. Fare riferimento ai documenti DIN/CLSI appropriati per le linee guida specifiche per ciascun organismo di prova.

## Metodo CLSI:

1. Metodo di crescita:
  - a. Selezionare almeno 3-5 colonie isolate con lo stesso tipo di morfologia dalla coltura di agar. Toccare la parte superiore di ciascuna colonia con un'ansa e trasferire in 4-5 ml di un brodo adatto come Tryptic Soy Broth (TSB).
  - b. Incubare la coltura in brodo a 35-37 °C fino a quando la torbidità non è uguale o superiore a quella di un McFarland da 0,5 o equivalente.
  - c. Se necessario, regolare la torbidità della sospensione con soluzione fisiologica sterile o brodo in modo tale da ottenere una torbidità a uno standard McFarland di 0,5. Questo passaggio può essere eseguito visivamente o utilizzando un dispositivo fotometrico. Se eseguito visivamente, utilizzare una luce adeguata per confrontare la sospensione con la McFarland 0,5 su un cartoncino con sfondo bianco e linee nere a contrasto<sup>5</sup>.
2. Metodo della colonia diretta: (Metodo preferito per streptococchi e stafilococchi).
  - a. Preparare una sospensione diretta del microorganismo in soluzione fisiologica o brodo da una coltura di 18-24 ore su terreno non selettivo.
  - b. Regolare la torbidità della sospensione come descritto in Metodo di crescita.
3. Inoculare le piastre di agar entro 15 minuti dalla preparazione della sospensione di microrganismi.
4. Immergere un tampone sterile nella sospensione. Ruotare il tampone contro il lato della provetta sopra il livello del fluido per rimuovere il fluido in eccesso.
5. Inoculare la superficie su tre piani ruotando la piastra di circa 60 gradi ogni volta.
6. Rimettere il coperchio e lasciare riposare la piastra sul banco per almeno 3 minuti, ma non più di 15 minuti, affinché l'inoculo venga assorbito, prima di applicare i dischi di sensibilità ad antibiotici.

7. Applicare i dischi singolarmente o utilizzando un dispenser per dischi antimicrobici. Il disco non deve essere più vicino di 24 mm da centro a centro e non posizionato troppo vicino al bordo della piastra. Poiché alcuni farmaci si diffondono quasi istantaneamente, non riposizionare un disco una volta entrato in contatto con la superficie dell'agar. Toccare delicatamente i dischi con un ago sterile o una pinza per garantire il completo contatto con la superficie dell'agar.
8. Capovolgere la piastra e metterla nell'incubatrice entro 15 minuti dall'applicazione del disco.
  - a. Incubare le piastre di agar Mueller-Hinton con sangue di pecora in aerobiosi a 35-37 °C per 16-18 ore.  
**Nota:** stafilococchi ed enterococchi richiedono un'incubazione completa di 24 ore. Gli stafilococchi resistenti alla meticillina (MRS) potrebbero non essere rilevati a temperature di incubazione superiori a 35 °C.
  - b. Incubare *Streptococcus* spp. in CO<sub>2</sub> al 5-7% a 35-37 °C per 20-24 ore.
  - c. Fare riferimento al documento CLSI M45 per tempi di incubazione, temperature e atmosfere per batteri esigenti o isolati raramente<sup>19</sup>.

## Interpretazione

Dopo 16-24 ore di incubazione a 35-37 °C, *S. pneumoniae* mostra tipicamente colonie di 1-2 mm unitamente ad α-emolisi su agar sangue. *S. pneumoniae* può anche apparire come colonie ad anelli concentrici con centro depresso e bordo rialzato.

## Controllo qualità

È responsabilità dell'utente eseguire i test di controllo qualità tenendo conto dell'uso previsto del terreno e in conformità alle normative locali applicabili (frequenza, numero di ceppi, temperatura di incubazione ecc.).

Condizioni di incubazione: 18 ± 2 ore a 36 °C ± 1 °C in un'atmosfera arricchita di anidride carbonica.

Microrganismo	Disco antibiotico	Diametro zona di inibizione (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC®49619	Eritromicina (E15)	26-32
	Cefpodoxima (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacina (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®49766	Eritromicina (E15)	10-16
	Cefpodoxima (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacina (MXF 5)	30-36

## Limitazioni

Microrganismi con pattern enzimatici atipici possono dare reazioni anomale sull'agar Mueller-Hinton con sangue di cavallo.

## Caratteristiche delle prestazioni

L'accuratezza è stata dimostrata attraverso la revisione dei dati di controllo qualità. Il corretto rilevamento di microrganismi esigenti è confermato dall'inclusione di un isolato ben caratterizzato nei processi di controllo qualità eseguiti nell'ambito della produzione di ciascun lotto del dispositivo. La precisione di Mueller-Hinton Agar with Horse Blood (PB5303A) è stata dimostrata da un tasso di

superamento complessivo del 99,7% ottenuto per il prodotto in un periodo di 11 anni (2010-2021; 3439 lotti). Ciò dimostra che la prestazione è riproducibile.





Le prestazioni sono valutate come diametro della zona di inibizione misurato sul terreno di prova utilizzando i dischi di sensibilità ad antibiotici Thermo Scientific™ Oxoid™, rispetto ai diametri specificati nello standard CLSI M100<sup>10</sup>.

L'inoculo viene preparato da colture di lavoro, diluito per ottenere i livelli di inoculo specificati e inoculando poi il terreno di prova. I dischi antibiotici vengono caricati nello stesso ordine e concentrazione in cui appaiono nel piano di ispezione per il terreno. Dopo l'incubazione a 34-36 °C per 16-20 ore in un'atmosfera con CO<sub>2</sub> al 4-6%, viene misurato il diametro della zona di inibizione degli organismi di prova e tratte le conclusioni sulla base dei risultati.

## Bibliografia

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsiTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

## Legenda dei simboli

Simbolo	Definizione
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico in vetro
	Codice lotto
	Limite di temperatura

	Usare entro la data di scadenza
	Tenere lontano dalla luce del sole
	Non riutilizzare
	Consultare le istruzioni per l'uso o consultare le istruzioni per l'uso elettroniche
	Contiene una quantità sufficiente per <n> test
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata e consultare le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/ Unione europea
	Valutazione di conformità europea
	Valutazione di conformità UK
	Identificatore univoco del dispositivo



©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati. ATCC e i marchi del catalogo ATCC sono un marchio di American Type Culture Collection. CLSI è un marchio del Clinical Laboratory and Standards Institute. Tutti gli altri marchi sono di proprietà di Thermo Fisher Scientific Inc. e delle sue consociate.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England



Per assistenza tecnica, contattare il proprio distributore locale.

## Informazioni sulla revisione

Versione	Data di emissione e modifiche introdotte
1.0	2022-11-02. Nuovo documento. (LIVE)



www.thermofisher.com

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Przeznaczenie

Wyrób Mueller-Hinton Agar with Horse Blood to podłoże agarowe do badania wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe, zalecane do testów metodą dyfuzyjno-krążkową i badania MIC drobnoustrojów wybrednych wyizolowanych z próbek klinicznych.

Wyrób nie jest zautomatyzowany, jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego i nie jest diagnostyką towarzyszącą.

### Podsumowanie i wyjaśnienie

Paciorkowce to Gram-dodatnie ziarniaki, które zamieszkują szeroką gamę nisz ekologicznych i obejmują od niepatogennych gatunków wykorzystywanych do produkcji jogurtów po komensalnych przedstawicieli mikrobiomu jamy ustnej ssaków i inwazyjne patogeny ludzkie<sup>1,2,3</sup>. Paciorkowce można sklasyfikować przez serotypowanie na podstawie składu węglowodanowego ściany komórkowej do grup od A do S według podziału Lancefield oraz do paciorkowców innych niż uwzględnione w podziale Lancefield<sup>1,2,3</sup>. Paciorkowce nieuwzględnione w podziale Lancefield nie mogą być grupowane według serotypów Lancefield i obejmują szeroki zakres gatunków niepatogennych i patogennych, z których za najważniejszy patogen ludzki uznawany jest *S. pneumoniae*<sup>1,2,3</sup>.

Szereg wytycznych instytucji National Institute for Health and Care Excellence (NICE) i Public Health England (PHE) opisuje *S. pneumoniae* jako jedną z głównych przyczyn zapalenia opon mózgowych i zakażeń krwi — inwazyjnych chorób związanych z wysoką zachorowalnością i umieralnością<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* jest organizmem podlegającym obowiązkowi zgłoszenia, co oznacza, że zakażenie tym patogenem ma tak istotne znaczenie kliniczne, że zgodnie z prawem wymagane jest zgłoszenie rozpoznania tych chorób do organu rządowego PHE<sup>3,9</sup>. Status *S. pneumoniae* jako organizmu podlegającego obowiązkowi zgłoszenia podkreśla znaczenie nadzoru nad zakażeniami w celu identyfikacji przyszłych ognisk choroby oraz zmniejszenia potencjalnej zachorowalności i umieralności<sup>10,11</sup>.

### Zasada metody

Podłoże agarowe Muellera-Hinton jest krytykowane ze względu na różnice w działaniu podłoża w zależności od producenta i partii wyrobu. Wykazano następujące konsekwencje takich różnic w działaniu:

- (1) Zmienność minimalnego stężenia hamującego (ang. minimum inhibitory concentration, MIC) w przypadku aminoglikozydów przeciwko gatunkowi *Pseudomonas aeruginosa* i w przypadku tetracykliny przeciwko gronkowcom. Mogło to wynikać z różnych stężeń dwuwartościowych kationów wapnia i magnezu.
- (2) Różnice w zawartości tyminy i tymidyny, które wpływają na wartości MIC sulfonamidu i trimetoprymu.
- (3) Różnice w charakterystyce agaru użytego w podłożu, w szczególności w zakresie właściwości dyfuzyjnych.

W świetle krytyki Instytut Standardów Klinicznych i Laboratoryjnych (ang. Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) (wcześniej NCCLS) zorganizował spotkanie

# Thermo

## SCIENTIFIC

zainteresowanych producentów w celu omówienia standaryzacji i stabilizacji podłoża agarowego Muellera-Hinton. Ustalono metody kontroli, w których krytyczne kombinacje środków przeciwdrobnoustrojowych i organizmów musiały dawać spójne strefy zahamowania w zakresie 2 mm względem średnic określonych w normie. Rezultatem tej współpracy jest to, że pożywka agarowa Muellera-Hinton jest obecnie podłożem standardowym.

Podłoże agarowe Muellera-Hinton z dodatkami jest zalecane zarówno przez CLSI, jak i Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości (ang. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) do testowania szczepów niewybrednych. Dodatki umożliwiają lepsze dostosowanie podłoża do potrzeb bardziej wybrednych szczepów.

### Typowa formuła

	gramów na litr
Wolowina, odwodniony wyciąg	300,0
Hydrolizat kazeiny	17,5
Skrobia	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Defibrynowana krew końska	50,0 ml

### Wygląd fizyczny

Kolor	Czerwony
Przejrzystość	Nieprzejrzysty
Masa wypełnienia	23,5 ±5%
pH	7,3 ±0,1

### Dostarczone materiały

PB5303A: płytki 10 × 90 mm z podłożem agarowym Muellera-Hinton z krwią końską

Każda płytka powinna być użyta tylko raz.

### Materiały wymagane, ale niedostarczone

- Ezy
- Waciki
- Pojemniki zbiorcze
- Inkubatory
- Organizmy kontroli jakości

### Materiały opcjonalne

- Krążki do badania wrażliwości na erytromycynę (CT0020B)
- Krążki do badania wrażliwości na cefpodoxym (CT1612B)
- Krążki do badania wrażliwości na ertapenem (CT1761B)
- Krążki do badania wrażliwości na moksyflokscynę (CT1633B)

### Przechowywanie

- Przechowywać produkt w oryginalnym opakowaniu w temperaturze 2–12°C do momentu użycia.
- Produkt można stosować do daty ważności podanej na etykiecie.
- Przechowywać z dala od światła.
- Przed użyciem pozostawić produkt do osiągnięcia temperatury pokojowej.
- Nie inkubować przed użyciem.

### Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Wyłącznie do diagnostyki in vitro.
- Tylko do użytku profesjonalnego.
- Sprawdzić opakowanie produktu przed pierwszym użyciem.
- Nie używać produktu, w przypadku uszkodzonego opakowania lub płytek.

- Nie używać produktu po upływie podanego terminu ważności.
- Nie używać wyrobu, jeśli widoczne są oznaki zanieczyszczenia.
- Nie używać wyrobu, jeśli kolor uległ zmianie lub są inne oznaki pogorszenia jakości.
- Każde laboratorium odpowiada za gospodarowanie odpadami wytwarzanymi zgodnie z ich charakterem i stopniem zagrożenia oraz za ich przetwarzanie lub usuwanie zgodnie z wszelkimi obowiązującymi przepisami federalnymi, stanowymi i lokalnymi. Należy uważnie przeczytać instrukcje i postępować zgodnie z nimi. Obejmuje to usuwanie zużytych lub niewykorzystanych odczynników, a także wszelkich innych skażonych materiałów jednorazowego użytku zgodnie z procedurami dotyczącymi produktów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Informacje na temat bezpiecznego obchodzenia się z produktem i usuwania produktu do odpadów można znaleźć w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej (MSDS) ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Poważne zdarzenia

Każde poważne zdarzenie, które miało miejsce w związku z wyrobem, należy zgłaszać producentowi i właściwemu organowi regulacyjnemu, w którym użytkownik i/lub pacjent mają siedzibę.

### Pobieranie, przenoszenie i przechowywanie próbek

Próbki należy pobierać i obchodzić się z nimi zgodnie z zalecanymi lokalnymi wytycznymi, takimi jak norma CLSI M100<sup>10</sup>.

### Procedura

Przed użyciem należy odczekać, aż płytki i krążki do badania wrażliwości przeciwdrobnoustrojowej osiągną temperaturę pokojową. Powierzchnia agaru nie powinna być nadmiernie wilgotna przed inokulacją. Inokulum można przygotować, stosując metodę wzrostu lub metodę bezpośredniej kolonii. Należy się zapoznać z odpowiednimi dokumentami DIN/CLSI, aby uzyskać wytyczne dotyczące każdego badanego organizmu.

### Metoda CLSI:

1. Metoda wzrostu:
  - a. Wybrać co najmniej 3–5 wyizolowanych kolonii o tym samym typie morfologii z hodowli na płytce agarowej. Dotknąć wierzchołka każdej kolonii eżą i przenieść do 4–5 ml odpowiedniego podłoża bulionowego, takiego jak bulion tryptonowo-sojowy (TSB).
  - b. Inkubować hodowlę bulionową w temperaturze 35–37°C, aż zmętnienie będzie równe lub większe względem wzorca 0,5 McFarlanda lub jego odpowiednika.
  - c. W razie potrzeby skorygować zmętnienie zawiesiny sterylnym roztworem soli fizjologicznej lub bulionem, aby uzyskać zmętnienie odpowiadające wzorcowi 0,5 McFarlanda. Ten etap można wykonać pod kontrolą wzrokową lub z wykorzystaniem urządzenia fotometrycznego. Jeśli wykonuje się go pod kontrolą wzrokową, należy to robić w odpowiednim oświetleniu, aby porównać zawiesinę z wzorcem 0,5 McFarlanda na karcie z białym tłem i kontrastowymi czarnymi liniami<sup>5</sup>.

2. Metoda bezpośredniej kolonii (metoda z wyboru dla paciorkowców i gronkowców):
  - a. Przygotować metodą bezpośrednią zawiesinę badanego organizmu w roztworze soli fizjologicznej lub bulionie z 18–24-godzinnej hodowli na podłożu nieselektywnym.
  - b. Dostosować zmętnienie zawiesiny zgodnie z opisem w części „Metoda wzrostu”.
3. Inokulować płytki agarowe w ciągu 15 minut od przygotowania zawiesiny z organizmem.
4. Zanurzyć w zawiesinie sterylny wacik. Aby usunąć nadmiar płynu, obracać wacikiem dociśniętym do ścianki próbki powyżej poziomu płynu.
5. Inokulować powierzchnię w trzech płaszczyznach, obracając płytkę za każdym razem o około 60 stopni.
6. Założyć pokrywkę i pozostawić płytkę na stole przez co najmniej 3 minuty, ale nie dłużej niż 15 minut, aby inokulum zostało wchłonięte przed nałożeniem krążków do badania wrażliwości przeciwdrobnoustrojowej.
7. Nakładać krążki pojedynczo lub za pomocą dozownika krążków do badania wrażliwości przeciwdrobnoustrojowej. Krążek nie powinien znajdować się bliżej niż 24 mm od środka do środka i nie powinien być umieszczony zbyt blisko krawędzi płytki. Ponieważ niektóre leki dyfundują niemal natychmiast, nie należy przesunąć krążka, gdy zetknie się on z powierzchnią agaru. Delikatnie postukać w krążki sterylną igłą lub kleszczykami, aby zapewnić całkowity kontakt z powierzchnią agaru.
8. Odwrócić płytkę i umieścić w inkubatorze w ciągu 15 minut od nałożenia krążka.
  - a. Inkubować płytki z podłożem agarowym Muellera-Hinton z krwią owczą w warunkach tlenowych w temperaturze 35–37°C przez 16–18 godzin.  
**Uwaga:** Gronkowce i enterokoki wymagają pełnej 24-godzinnej inkubacji. Gronkowce odporne na metycylinę (ang. methicillin-resistant staphylococci, MRS) mogą nie być wykrywane w temperaturach inkubacji powyżej 35°C.
  - b. Inkubować gatunek *Streptococcus* w atmosferze 5–7% CO<sub>2</sub> w temperaturze 35–37°C przez 20–24 godzin.
  - c. Należy się zapoznać z dokumentem CLSI M45, aby uzyskać informacje na temat czasów, temperatur i atmosfer inkubacji dla wybrednych lub rzadko izolowanych bakterii<sup>19</sup>.

### Interpretacja

Po 16–24 godzinach inkubacji w temperaturze 35–37°C bakterie *S. pneumoniae* zazwyczaj wytwarzają kolonie 1–2 mm oraz wykazują hemolizę  $\alpha$  na agarze z krwią. Bakterie *S. pneumoniae* mogą również pojawiać się jako kolonie Draughtsmana z obniżonym środkiem i podwyższonym brzegiem.

### Kontrola jakości

Obowiązkiem użytkownika jest wykonanie testów kontroli jakości z uwzględnieniem zamierzonego zastosowania podłoża i zgodnie z wszelkimi obowiązującymi lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura inkubacji, itp.).

Warunki inkubacji: 18 godzin  $\pm$  2 godziny w temperaturze 36°C  $\pm$  1°C w atmosferze wzbogaconej w dwutlenek węgla

Drobnoustrój	Krażek z antybiotykiem	Średnica strefy zahamowania (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Erytromycyna (E15)	26-32
	Cefpodoxym (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moksyflokscyna (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Erytromycyna (E15)	10-16
	Cefpodoxym (CPD 10)	30-36
	Moksyflokscyna (MXF 5)	30-36

- National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsiTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
- Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
- Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
- Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

### Ograniczenia

Organizmy o nietypowych wzorcach enzymów mogą wykazywać nieprawidłowe reakcje na podłożu Mueller-Hinton Agar with Horse Blood.

### Charakterystyka wydajności

Dokładność została wykazana poprzez przegląd danych dotyczących kontroli jakości. Prawidłowe wykrycie wymagających mikroorganizmów potwierdza włączenie dobrze scharakteryzowany izolat do procesów QC wykonywanych w ramach produkcji każdej serii urządzenia. Precyzja działania wyrobu Mueller-Hinton Agar with Horse Blood (PB5303A) została wykazana przez całkowity wskaźnik zdawalności wynoszący 99,7% uzyskany dla produktu w okresie 11 lat (2010–2021; 3439 partii). Oznacza to, że działanie wyrobu jest powtarzalne.

Działanie ocenia się na podstawie średnicy strefy zahamowania mierzonej na podłożu testowym za pomocą krążków do badania wrażliwości przeciwdrobnoustrojowej Thermo Scientific™ Oxoid™ w porównaniu z średnicami określonymi w standardzie CLSI M100<sup>10</sup>.

Inokulum jest przygotowywane z hodowli roboczych, rozcieńczane w celu uzyskania określonych poziomów inokulum, a następnie przenoszone na podłoże testowe. Krążki z antybiotykiem są ładowane w tej samej kolejności i w tych samych stężeniach, jakie pojawiają się w planie kontroli podłoża. Po inkubacji w temperaturze 34–36°C przez 16–20 godzin w atmosferze 4–6% CO<sub>2</sub> mierzy się średnicę strefy zahamowania badanych organizmów i można ustalić wyniki oraz sformułować wnioski.

### Bibliografia

- Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
- Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
- National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
- National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."

### Legenda symboli

Symbol	Definicja
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Kod partii
	Ograniczenie temperatury
	Użyć przed datą
	Trzymać z dala od światła słonecznego
	Nie używać ponownie
	Zapoznać się z instrukcją użytkownika lub z instrukcją użytkownika w formie elektronicznej
	Zawartość wystarcza na <n> testów
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania i zapoznać się z instrukcją użytkownika
	Producent
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej/ Unii Europejskiej
	Europejska ocena zgodności
	Ocena zgodności w Wielkiej Brytanii
	Unikatowy identyfikator urządzenia



© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.  
Znaki katalogowe ATCC i ATCC są znakiem towarowym American Type Culture Collection.  
CLSI jest znakiem towarowym Clinical Laboratory and Standards Institute.  
Wszystkie inne znaki towarowe są własnością Thermo Fisher Scientific Inc. i jej spółek zależnych.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,  
Hampshire, RG24 8PW, Anglia



Aby uzyskać pomoc techniczną, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.

### Informacje o wersji

Wersja	Data wydania i wprowadzone modyfikacje
1.0	2022-11-02. Nowy dokument. (NA ZYWO)





## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Utilização prevista

O Ágar Mueller-Hinton com Sangue de Equídeo é um ágar de sensibilidade antimicrobiana recomendado para difusão em disco e testes de CIM contra microrganismos exigentes isolados de amostras clínicas.

O dispositivo destina-se exclusivamente a uso profissional, não é automatizado e não é um meio de diagnóstico complementar.

### Resumo e explicação

Estreptococos são cocos Gram-positivos que habitam uma ampla gama de nichos ecológicos, desde espécies não patogênicas utilizadas na indústria de fabrico de iogurtes, até membros comensais do microbioma oral de mamíferos e patógenos humanos invasivos<sup>1,2,3</sup>. Os estreptococos podem ser classificados por sorotipagem com base na composição de carboidratos da parede celular nos grupos de Lancefield A a S, e os estreptococos não Lancefield<sup>1,2,3</sup>. Estreptococos não-Lancefield não podem ser agrupados pela sorotipagem de Lancefield e incluem uma ampla gama de espécies não patogênicas e patogênicas com *S. pneumoniae* considerado o patógeno humano mais significativo<sup>1,2,3</sup>.

Várias diretrizes do National Institute for Health and Care Excellence (NICE) e Public Health England (PHE) descrevem a *S. pneumoniae* como uma das principais causas de meningite e infeções da corrente sanguínea, ambas doenças invasivas associadas a alta morbidade e mortalidade<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. A *S. pneumoniae* é um microrganismo de notificação obrigatória, o que significa que a infeção com este patógeno é de tal significância clínica que é exigido por lei relatar o diagnóstico dessas doenças à autoridade governamental PHE<sup>3,9</sup>. O estado da *S. pneumoniae* como um microrganismo de notificação obrigatória destaca a importância da vigilância de infeções para identificar futuros surtos de doenças e reduzir a morbidade e mortalidade potenciais<sup>10,11</sup>.

### Princípio do método

O Ágar Mueller-Hinton tem sido criticado devido à variação de desempenho entre fabricantes e lotes de meio. Estes efeitos foram mostrados como:

- (1) Variações da concentração inibidora mínima (CIM) com aminoglicosídeos contra *Pseudomonas aeruginosa* e tetraciclina contra estafilococos. Isto pode ter ocorrido devido a diferentes concentrações dos cátions divalentes de cálcio e magnésio.
- (2) Variação no teor de timina e timidina, que afeta os valores de CIM de sulfonamida e trimetoprima
- (3) Diferenças nas características do ágar utilizado no meio, especialmente nas propriedades de difusão

À luz das críticas, o Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (anteriormente NCCLS) convocou os fabricantes interessados para discutir a padronização e estabilização do Ágar Mueller-Hinton. Foram estabelecidos métodos de controlo em que combinações críticas de antimicrobianos/microrganismos tiveram que produzir zonas consistentes de inibição dentro de dois mm dos diâmetros especificados no padrão. O resultado desse esforço cooperativo é que o Ágar Mueller-Hinton é agora um meio padrão.

O Ágar Mueller-Hinton suplementado é recomendado pelo CLSI e Comité Europeu de Avaliação de Sensibilidade Antimicrobiana (EUCAST) para testes de estirpes não exigentes. São adicionados suplementos para torná-lo adequado para estirpes mais exigentes.

### Fórmula típica

	gramas por litro
Infusão de bovino desidratada de	300,0
Hidrolisado de caseína	17,5
Amido	1,5
NAD	0,02
Ágar	17,0
Sangue de equídeo desfibrinado	50,0 ml

### Aspetto físico

Cor	Sinal vermelho
Clareza	Opaco
Peso de preenchimento	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Material fornecido

PB5303A: 10 x 90 mm de ágar Mueller Hinton com placas de sangue de equídeo

Cada placa só deve ser utilizada uma vez.

### Materiais necessários, mas não fornecidos

- Ansas de inoculação
- Zaragatoas
- Recipientes de colheita
- Incubadoras
- Microrganismos de controlo de qualidade

### Materiais opcionais

- Discos para teste de sensibilidade antimicrobiana à eritromicina (CT0020B)
- Discos para teste de sensibilidade antimicrobiana à cefpodoxima (CT1612B)
- Discos para teste de sensibilidade antimicrobiana ao ertapenem (CT1761B)
- Discos para teste de sensibilidade antimicrobiana à moxifloxacina (CT1633B)

### Armazenamento

- Armazenar o produto na embalagem original a 2–12 °C até ser utilizado.
- O produto pode ser utilizado até à data de validade indicada na etiqueta.
- Armazenar protegido da luz.
- Deixar o produto aquecer até à temperatura ambiente antes de o utilizar.
- Não incubar antes da utilização.

### Advertências e precauções

- Apenas para utilização em diagnóstico in vitro.
- Apenas para utilização profissional.
- Examinar a embalagem do produto antes da primeira utilização.
- Não utilizar o produto se existirem danos visíveis na embalagem ou nas placas.
- Não utilizar o produto além da data de validade indicada.
- Não utilizar o dispositivo se existirem sinais de contaminação.
- Não utilizar o dispositivo se a cor tiver sofrido alterações ou se existirem outros sinais de deterioração.
- É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos produzidos de acordo com a sua natureza e grau de perigo e tratá-los ou eliminá-los de acordo com quaisquer regulamentos

federais, estaduais e locais aplicáveis. As instruções devem ser lidas e seguidas com cuidado. Isto inclui a eliminação de reagentes utilizados ou não utilizados, bem como qualquer outro material descartável contaminado seguindo os procedimentos para produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança do Material (MSDS) para obter informações sobre o manuseamento e a eliminação seguros do produto em ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

## Incidentes graves

Qualquer ocorrência de um incidente grave relacionada com o dispositivo deverá ser comunicada ao fabricante e à autoridade reguladora relevante no local em que o utilizador e/ou doente reside.

## Colheita, manuseamento e armazenamento de amostras

As amostras devem ser colhidas e manuseadas seguindo as diretrizes locais recomendadas, tais como o padrão M100<sup>10</sup> do CLSI.

## Procedimento

Deixe as placas e os discos de sensibilidade antimicrobiana atingirem a temperatura ambiente antes de utilizar. A superfície do ágar não deve ter excesso de humidade antes da inoculação.

O inóculo pode ser preparado utilizando o método de crescimento ou o método de colónia direta. Consulte os documentos DIN/CLSI apropriados para obter diretrizes específicas para cada microrganismo de teste

## Método CLSI:

- Método de crescimento:
  - Selecione pelo menos 3-5 colónias isoladas do mesmo tipo de morfologia da cultura de ágar. Toque na parte superior de cada colónia com uma ansa e transfira para 4-5 ml de um meio de caldo adequado, como o Caldo Triptico de Soja (TSB)
  - Incube a cultura do caldo a 35-37 °C até que a turbidez seja igual ou superior a 0,5 McFarland ou equivalente.
  - Se necessário, ajuste a turbidez da suspensão com solução salina ou caldo estéril para obter uma turbidez para atingir um padrão McFarland de 0,5. Este passo pode ser realizado visualmente ou utilizando um dispositivo fotométrico. Se realizado visualmente, utilize luz adequada para comparar a suspensão com o McFarland de 0,5 contra um cartão com fundo branco e linhas pretas contrastantes<sup>5</sup>.
- Método de colónia direta: (Método de escolha para estreptococos e estafilococos).
  - Prepare uma suspensão direta do microrganismo de teste em solução salina ou caldo de uma cultura de 18-24 horas em meio não seletivo.
  - Ajuste a turbidez da suspensão conforme descrito em Método de crescimento.
- Inocule as placas de ágar no prazo de 15 minutos após a preparação da suspensão do microrganismo.
- Mergulhe uma zaragatoa estéril na suspensão. Rode a zaragatoa contra a lateral do tubo acima do nível do fluido para remover o excesso de fluido.
- Inocule a superfície em três planos rodando a placa aproximadamente 60 graus de cada vez.
- Recoloque a tampa e deixe a placa descansar na bancada por pelo menos 3 minutos, mas não mais que

15 minutos para que o inóculo seja absorvido antes de aplicar os discos de sensibilidade antimicrobiana.

- Aplique os discos individualmente ou utilizando um dispensador de disco antimicrobiano. O disco não deve estar a menos de 24 mm de centro a centro e não deve ser colocado muito perto da extremidade da placa. Como alguns fármacos se difundem quase instantaneamente, não reposicione um disco depois de o mesmo entrar em contacto com a superfície do ágar. Bata os discos suavemente com agulha estéril ou fórceps para garantir o contacto completo com a superfície do ágar.
- Inverta a placa e coloque na incubadora no prazo de 15 minutos após a aplicação do disco.
  - Incube as placas de Agar Mueller-Hinton com Sangue de Ovino aerobicamente a 35-37 °C durante 16-18 horas.  
**Nota:** estafilococos e enterococos requerem uma incubação completa de 24 horas. Os estafilococos resistentes à metilicina (MRS) podem não ser detetados em temperaturas de incubação acima de 35 °C.
  - Incube *Streptococcus* spp. em 5-7% de CO<sub>2</sub> a 35-37 °C durante 20-24 horas.
  - Consulte o documento M45 do CLSI para obter os tempos de incubação, temperaturas e atmosferas para bactérias exigentes ou isoladas com pouca frequência<sup>19</sup>.

## Interpretação

Após 16-24 horas de incubação a 35-37 °C, as *S. pneumoniae* tipicamente exibem colónias de 1-2 mm e exibem α-hemólise em ágar sangue. As *S. pneumoniae* também podem assemelhar-se a colónias de projeto com um centro baixo e um rebordo elevado.

## Controlo de qualidade

É da responsabilidade do utilizador realizar testes de Controlo de qualidade levando em consideração a utilização prevista do meio e de acordo com quaisquer regulamentos locais aplicáveis (frequência, número de estirpes, temperatura de incubação, etc.).

Condições de incubação: 18 ± 2h a 36 ± 1 °C numa atmosfera de dióxido de carbono reforçada

Microrganismo	Disco de antibiótico	Diâmetro da Zona de Inibição (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC®49619	Eritromicina (E15)	26-32
	Cefpodoxima (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacina 5 (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®49766	Eritromicina (E15)	10-16
	Cefpodoxima (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacina 5 (MXF 5)	30-36

## Limitações

Os microrganismos com padrões enzimáticos atípicos podem dar lugar a reações anómalas em Ágar Mueller-Hinton com Sangue de Equídeo.

## Características de desempenho

A precisão foi demonstrada através da revisão dos dados de controlo de qualidade (CQ). A deteção correta de microrganismos exigentes é confirmada pela inclusão de

um isolado bem caracterizado nos processos de CQ realizados como parte do fabrico de cada lote do dispositivo. A precisão do Agar Mueller-Hinton com Sangue de Equídeo (PB5303A) foi demonstrada por uma taxa geral de aprovação de 99,7% obtida para o produto durante um período de 11 anos (2010-2021; 3439 lotes) Isso mostra que o desempenho é reproduzível.
















O desempenho é avaliado como o diâmetro da zona de inibição medido no meio de teste utilizando discos de sensibilidade antimicrobiana Thermo Scientific™ Oxoid™, em comparação com os diâmetros especificados no padrão M100 do CLSI<sup>10</sup>.

O inóculo é preparado a partir de culturas de trabalho, diluído para obter os níveis de inóculo especificados e o meio de teste é inoculado. Os discos de antibióticos são carregados na mesma ordem e concentrações que aparecem no plano de inspeção para o meio. Após a incubação a 34-36 °C durante 16-20 horas em 4-6% de CO<sub>2</sub>, o diâmetro da zona de inibição dos microrganismos de teste é medido e os resultados e conclusões podem ser criados.

## Bibliografia

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsiTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

## Legenda dos símbolos

Símbolo	Definição
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Código do lote
	Limite de temperatura
	Prazo de validade
	Manter afastado da luz solar
	Não reutilizar
	Consultar as instruções de utilização ou consultar as instruções de utilização eletrônicas
	Contém quantidade suficiente para <n> testes
	Não reutilizar se a embalagem estiver danificada e consultar as instruções de utilização
	Fabricante
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia
	Avaliação de Conformidade Europeia
	Avaliação de Conformidade do Reino Unido
	Identificador único do dispositivo



©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos os direitos reservados.

ATCC e as marcas de catálogo ATCC são marcas comerciais da American Type Culture Collection. CLSI é uma marca comercial do Clinical Laboratory and Standards Institute.

Todas as outras marcas comerciais são propriedade da Thermo Fisher Scientific Inc. e respetivas subsidiárias.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Reino Unido



Para obter assistência técnica, contacte o seu distribuidor local.

**Informações da revisão**

Versão	Data de publicação e modificações introduzidas
1.0	2022-11-02. Novo documento. (EM VIGOR)



www.thermofisher.com

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Utilizare prevăzută

Agarul Mueller-Hinton cu sânge de cal este un agar pentru testarea sensibilității la antimicrobiene, recomandat pentru testarea prin difuziunea discurilor și testarea CMI a microorganismelor pretențioase izolate din probele clinice. Dispozitivul este exclusiv de uz profesional, nu este automatizat și nici nu constituie un diagnostic complementar.

### Rezumat și explicație

Streptococii sunt coci gram-pozitivi care locuiesc într-o gamă largă de nișe ecologice, de la speciile nepatogene utilizate în industria de fabricare a iaurtului, până la membrii comensali ai microbiomului oral al mamiferelor și agenții patogeni umani invazivi<sup>1,2,3</sup>. Streptococii pot fi clasificați prin serotipizare, pe baza compoziției de carbohidrați a peretelui celular, în grupurile Lancefield de la A la S și în streptococi non-Lancefield.<sup>1,2,3</sup> Streptococii non-Lancefield nu pot fi grupați după serotipizarea Lancefield și includ o gamă largă de specii nepatogene și patogene, dintre care *S. pneumoniae* se consideră a fi cel mai important agent patogen uman<sup>1,2,3</sup>.

O serie de orientări ale National Institute for Health and Care Excellence (NICE) și Public Health England (PHE) descriu *S. pneumoniae* ca una dintre principalele cauze ale meningitei și infecțiilor sângelui, ambele fiind boli invazive asociate cu o morbiditate și mortalitate ridicată<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* este un organism cu declarare obligatorie, ceea ce înseamnă că infecțiile cu acest agent patogen au o semnificație clinică atât de importantă încât raportarea diagnosticului acestor boli către autoritatea guvernamentală PHE este obligatorie<sup>3,9</sup>. Statutul *S. pneumoniae* de organism cu declarare obligatorie evidențiază importanța supravegherii infecțiilor pentru a identifica viitoarele focare de boală și pentru a reduce morbiditatea și mortalitatea potențiale<sup>10,11</sup>.

### Principiul metodei

Agarul Mueller-Hinton a fost criticat din cauza variațiilor de performanță între producători și loturile de mediu. Aceste efecte au fost prezentate ca:

- (1) variații ale concentrației minime inhibitorii (CMI) ale aminoglicozidelor față de *Pseudomonas aeruginosa* și tetraciclinei față de stafilococi. Acest lucru se poate datora concentrațiilor diferite ale cationilor divalenți de calciu și magneziu;
- (2) variații ale conținutului de timidină și timidină, care afectează valorile CMI ale sulfonamidei și trimetoprimului;
- (3) diferențe în caracteristicile agarului utilizat în mediu, în special proprietățile de difuziune.

În lumina criticilor, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (anterior NCCLS) a convocat producătorii interesați pentru a discuta despre standardizarea și stabilizarea agarului Mueller-Hinton. Au fost stabilite metode de control prin care combinațiile critice antimicrobiene-organisme trebuiau să producă zone de inhibiție consecvente în limita a doi mm față de diametrele specificate în standard. Rezultatul acestui efort de cooperare este că agarul Mueller-Hinton este, în prezent, un mediu standard.

# Thermo

## SCIENTIFIC

Agarul Mueller-Hinton suplimentat este recomandat atât de CLSI, cât și de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) pentru testarea tulpinilor nepretențioase. Sunt adăugate suplimente pentru a-l face potrivit pentru tulpinile mai pretențioase.

### Formula tipică

	grame pe litru
Carne de vită, infuzie dehidratată din Hidrolizat de cazeină	300,0
Amidon	17,5
NAD	1,5
Agar	0,02
Sânge de cal defibrinat	17,0
	50,0 ml

### Aspectul fizic

Culoare	Signal red
Claritate	Opac
Greutate conținut	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Materiale furnizate

PB5303A: 10 plăci x 90 mm de agar Mueller Hinton cu sânge de cal

Fiecare placă în parte trebuie folosită o singură dată.

### Materiale necesare, dar nefurnizate

- Anse de inoculare
- Tamponane
- Recipiente de recoltare
- Incubatoare
- Organisme de control al calității

### Materiale opționale

- Discuri pentru testarea sensibilității la antimicrobiene cu eritromicină (CT0020B) la
- Discuri pentru testarea sensibilității la antimicrobiene cu cefpodoximă (CT1612B) la
- Discuri pentru testarea sensibilității la antimicrobiene cu ertapenem (CT1761B) la
- Discuri pentru testarea sensibilității la antimicrobiene cu moxifloxacină (CT1633B) la

### Depozitare

- Depozitați produsul în ambalajul original, la 2–12 °C, până la utilizare.
- Produsul poate fi utilizat până la data de expirare înscrisă pe etichetă.
- A se păstra departe de surse de lumină.
- Lăsați produsul să ajungă la temperatura camerei înainte de utilizare.
- Nu incubați înainte de utilizare.

### Avertismente și mijloace de precauție

- Exclusiv pentru diagnosticarea in vitro.
- Exclusiv de uz profesional.
- Inspectați ambalajul produsului înainte de prima utilizare.
- Nu utilizați produsul dacă ambalajul sau plăcile sunt deteriorate vizibil.
- A nu se utiliza produsul după data de expirare specificată.
- Nu utilizați dispozitivul dacă există semne de contaminare.
- Nu utilizați dispozitivul dacă culoarea este modificată sau dacă există alte semne de deteriorare.
- Este responsabilitatea fiecărui laborator să gestioneze deșeurile produse, în funcție de natura și gradul de pericol, și de a le trata sau elimina în conformitate cu reglementările aplicabile federale, statale și locale. Instrucțiunile

trebuie citite și urmate cu atenție. Aceasta include eliminarea reactivilor utilizați sau neutilizați, precum și a oricărui alt material contaminat de unică folosință, urmând procedurile pentru produsele infecțioase sau potențial infecțioase.

Consultați Fișa cu date de securitate a materialelor (MSDS) pentru manipularea și eliminarea în siguranță a produsului ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Incidente grave

Orice incident grav survenit în legătură cu dispozitivul va fi raportat producătorului și autorității de reglementare relevante a Statului Membru în care utilizatorul și/sau pacientul își are reședința.

### Recoltarea, manipularea și depozitarea probelor

Probele trebuie recoltate și manipulate conform orientărilor locale recomandate, de exemplu, standardul CLSI M100<sup>10</sup>.

### Procedură

Înainte de utilizare, lăsați plăcile și discurile pentru testarea sensibilității la antimicrobiene să ajungă la temperatura camerei. Suprafața agarului nu trebuie să fie umedă în exces înainte de inoculare.

Inoculul poate fi preparat utilizând fie metoda creșterii, fie metoda coloniei directe. Consultați documentele DIN/CLSI corespunzătoare pentru orientările specifice fiecărui organism de testare.

### Metoda CLSI:

- Metoda creșterii:
  - Selecția cel puțin 3 – 5 colonii izolate cu același tip de morfologie din cultura de agar. Atingeți partea superioară a fiecărei colonii cu o ansă și transferați în 4 – 5 ml dintr-un mediu bulion adecvat, cum ar fi Bulionul de triptonă-soia (TSB)
  - Se incubează cultura cu bulion la 35 – 37 °C până când turbiditatea este egală sau o depășește pe cea de 0,5 McFarland sau echivalentă.
  - Dacă este necesar, ajustați turbiditatea suspensiei cu ser fiziologic steril sau bulion pentru a obține o turbiditate pentru a obține o turbiditate la un standard 0,5 McFarland. Acest pas poate fi efectuat vizual sau folosind un dispozitiv fotometric. Dacă este efectuat vizual, utilizați o lumină adecvată pentru a compara suspensia cu 0,5 McFarland cu un card cu fundal alb și linii negre contrastante<sup>5</sup>.
- Metoda coloniei directe: (metoda preferată pentru streptococi și stafilococi).
  - Se prepară o suspensie directă din organismului de testat în ser fiziologic sau bulion dintr-o cultură de 18 – 24 de ore pe medii neselective.
  - Ajustați turbiditatea suspensiei conform descrierii din Metoda creșterii.
- Inoculați plăcile de agar în cel mult 15 minute de la prepararea suspensiei organismului.
- Scufundați un tampon steril în suspensie. Rotiți tamponul pe partea laterală a tubului, deasupra nivelului lichidului, pentru a elimina excesul de lichid.
- Inoculați suprafața în trei planuri rotind placa cu aproximativ 60 de grade de fiecare dată.
- Puneți la loc capacul și lăsați placa să se stabilizeze pe suprafața de lucru cel puțin 3 minute, dar nu mai mult de 15 minute, pentru ca inoculul să fie absorbit înainte de aplicarea discurilor pentru testarea sensibilității la antimicrobiene.

- Aplicați discurile individual sau folosind un dozator de discuri pentru testarea sensibilității la antimicrobiene. Discul nu trebuie să fie mai aproape de 24 mm de la centru la altul și să nu fie plasat prea aproape de marginea plăcii. Deoarece unele medicamente difuzează aproape instantaneu, nu re poziționați un disc după ce acesta a intrat în contact cu suprafața agarului. Atingeți ușor discurile cu un ac steril sau cu o pensetă pentru a asigura contactul complet cu suprafața agarului.
- Răsturnați placa și puneți-o în incubator în cel mult 15 minute de la aplicarea discului.
  - Incubați aerob plăcile de agar Mueller-Hinton cu sânge de oaie la 35 – 37 °C timp de 16 – 18 ore.  
**Notă:** Stafilococii și enterococii necesită o incubație completă de 24 de ore. Este posibil ca stafilococii rezistenți la metilicilină (MRS) să nu fie detectați la temperaturi de incubație mai mari de 35 °C.
  - Se incubează *Streptococcus* spp. în 5 – 7% CO<sub>2</sub> la 35 – 37 °C timp de 20 – 24 de ore.
  - Consultați documentul CLSI M45 pentru timpii de incubare, temperaturile și atmosferele pentru bacterii pretențioase sau izolate rar<sup>19</sup>.

### Interpretare

După 16 – 24 ore de incubare la 35 – 37 °C, *S. pneumoniae* prezintă, de obicei, colonii de 1 – 2 mm și α-hemoliză pe agar din sânge. *S. pneumoniae* pot apărea și sub formă de colonii rotunde („draughtsman”), cu centrul adâncit și marginea ridicată.

### Control de calitate

Este responsabilitatea utilizatorului să efectueze teste de control al calității ținând cont de utilizarea prevăzută a mediului și în conformitate cu orice reglementări locale aplicabile (frecvența, numărul de tulpini, temperatura de incubare etc.).

Condiții de incubație: 18 ± 2 ore la 36 ± 1 °C într-o atmosferă îmbogățită cu dioxid de carbon

Microorganism	Disc cu antibiotic	Diametrul zonei de inhibiție (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC®49619	Eritromicină (E15)	26-32
	Cefpodoximă (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacină (MXF 5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC®49766	Eritromicină (E15)	10-16
	Cefpodoximă (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacină (MXF 5)	30-36

### Limitări

Organismele cu modele enzimactice atipice pot avea reacții anormale pe agarul Mueller-Hinton cu sânge de cal.

### Caracteristici de performanță

Acuratețea a fost demonstrată prin revizuirea datelor de CC. Detectarea corectă a microorganismelor pretențioase este confirmată de includerea culturilor izolate bine caracterizate în procesele de CC, efectuată ca parte a fabricării fiecărui lot de dispozitive. Precizia agarului Mueller-Hinton cu sânge de cal (PB5303A) a fost demonstrată de o rată globală de promovare de 99,7% obținută pentru produs pe o perioadă de 11 ani (2010 – 2021; 3439 loturi). Aceasta arată că performanța este reproductibilă.






Performanța este evaluată ca diametru al zonei de inhibiție măsurat pe medii de testare folosind discuri pentru testarea sensibilității la antimicrobiene Thermo Scientific™ Oxoid™, comparativ cu diametrele specificate în standardul CLSI M100<sup>10</sup>.









Inoculul se prepară din culturi de lucru, se diluează pentru a obține nivelurile specificate de inocul și se inoculează mediul de testare. Discurile cu antibiotice sunt încărcate în aceeași ordine și concentrații cu care apar în planul de inspecție pentru mediu. După incubarea la 34 – 36 °C timp de 16 – 20 ore în 4 – 6% CO<sub>2</sub>, se măsoară diametrul zonei de inhibiție a organismelor de testat și se pot formula rezultatele și concluziile.

### Bibliografie

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

### Legenda simbolurilor

Simbol	Definiție
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical pentru diagnosticarea in vitro
	Codul lotului
	Limita de temperatură
	Data expirării

	A se păstra ferit de expunere la soare
	A nu se reutiliza
	Consultați instrucțiunile de utilizare sau consultați instrucțiunile de utilizare electronice
	Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste
	A nu se utiliza dacă ambalajul este deteriorat și consultați instrucțiunile de utilizare
	Producător
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/ Uniunea Europeană
	Marcajul de conformitate europeană
	Marcajul de conformitate pentru Regatul Unit
	Identificatorul unic al dispozitivului

ATCC Licensed  
Derivative

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Toate drepturile rezervate.  
Mărcile de catalog ATCC și ATCC sunt mărci comerciale ale American Type Culture Collection.  
CLSI este o marcă înregistrată a Clinical Laboratory and Standards Institute.  
Toate celelalte mărci comerciale aparțin Thermo Fisher Scientific Inc. și subsidiarelor acesteia.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England



Pentru asistență tehnică, vă rugăm să contactați distribuitorul local.

### Informații privind reviziile

Versiunea	Data publicării și modificările introduse
1.0	2022-11-02. Document nou. (ACTIV)



www.thermofisher.com

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Určené použitie

Mueller-Hintonovej agar s konskou krvou je agar na stanovenie antimikrobiálnej citlivosti odporúčaný na diskovú difúziu a testovanie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) u náročným mikroorganizmov izolovaných z klinických vzoriek.

Pomôcka je určená len na profesionálne použitie, nie je automatizovaná ani nie je sprievodnou diagnostikou.

### Zhrnutie a vysvetlenie

Streptokoky sú gram-pozitívne koky, ktoré sídlia v širokom spektre ekologických ník, od nepatogénnych druhov používaných v potravinárskom priemysle na výrobu jogurtov až po komenzálnych členov mikrobiómu ústnej dutiny cicavcov a invazívne ľudské patogény.<sup>1,2,3</sup> Streptokoky možno klasifikovať sérotypizáciou na základe zloženia sacharidov bunkovej steny na streptokoky patriace do skupín A až S podľa Lancefieldovej a streptokoky nepatriace do skupín podľa Lancefieldovej.<sup>1,2,3</sup> Streptokoky nepatriace do skupín podľa Lancefieldovej nemožno zoskupiť pomocou sérotypizácie podľa Lancefieldovej a zahŕňajú širokú škálu nepatogénnych a patogénnych druhov, pričom *S. pneumoniae* je považovaný za najvýznamnejší ľudský patogén.<sup>1,2,3</sup>

Množstvo usmernení Národného ústavu pre klinickú excelenciu (NICE) a Úradu verejného zdravotníctva v Anglicku (PHE) opisuje *S. pneumoniae* ako jednu z hlavných príčin meningitídy a infekcií krvného obehu, invazívnych ochorení spojených s vysokou chorobnosťou a úmrtnosťou.<sup>3,4,5,6,7,8</sup> *S. pneumoniae* je organizmus podliehajúci oznamovacej povinnosti, čo znamená, že infekcia týmto patogénom má taký klinický význam, že zo zákona vyplýva povinnosť hlásiť diagnózu týchto chorôb vládnemu orgánu PHE.<sup>3,9</sup> Status baktérie *S. pneumoniae* ako organizmu podliehajúceho oznamovacej povinnosti zdôrazňuje dôležitosť dohľadu nad infekciami s cieľom identifikovať prepuknutie chorôb v budúcnosti a znížiť potenciálnu chorobnosť a úmrtnosť.<sup>10,11</sup>

### Princíp metódy

Mueller-Hintonovej agar bol kritizovaný z dôvodu rozdielov vo výkonnosti medzi výrobcami a šaržami média. Tieto účinky sa preukázali ako:

- (1) Rozdiely minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) u aminoglykozidov voči baktérii *Pseudomonas aeruginosa* a u tetracyklínu voči stafylokokom. Mohlo to byť spôsobené rozdielnymi koncentraciami dvojmocných kationov vápnika a horčíka.
- (2) Rozdiely v obsahu tymínu a tymidínu, ktoré ovplyvňujú hodnoty MIC u sulfónamidu a trimetoprimu.
- (3) Rozdiely v charakteristikách agaru použitého v médiu, najmä v difúzných vlastnostiach.

Z dôvodu kritiky zvolal Ústav klinických a laboratórných noriem (CLSI) (predtým NCCLS) zainteresovaných výrobcov, aby prediskutovali štandardizáciu a stabilizáciu Mueller-Hintonovej agaru. Stanovili sa kontrolné metódy, pri ktorých kritické kombinácie antimikrobiálnej látky/organizmu museli poskytnúť konzistentné zóny inhibície v rozmedzí dvoch mm od priemerov špecifikovaných v norme. Výsledkom tohto spoločného úsilia je, že Mueller-Hintonovej agar je v súčasnosti štandardným médiom.

# Thermo

## SCIENTIFIC

Doplňený Mueller-Hintonovej agar odporúča Ústav klinických a laboratórných noriem (CLSI) aj Európsky výbor pre testovanie antimikrobiálnej citlivosti (EUCAST) na testovanie nenáročných kmeňov. Doplnky sa pridávajú, aby bol vhodný aj pre náročnejšie kmene.

### Typické zloženie

	gramy na liter
Hovädzia dehydratovaná infúzia z	300,0
Hydrolyzát kazeínu	17,5
Škrob	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Defibrinovaná konská krv	50,0 ml

### Fyzický vzhľad

Farba	Signálna červená
Priehľadnosť	Nepriehľadná
Hmotnosť náplne	23,5 ±5%
pH	7,3 ±0,1

### Dodávané materiály

PB5303A: 10 x 90 mm misky Mueller-Hintonovej agaru s konskou krvou

Každú misku použite len jedenkrát.

### Materiály požadované, ale nedodávané

- Očkovacie slučky
- Tampóny
- Zberné nádoby
- Inkubátory
- Organizmy kontroly kvality

### Voliteľné materiály

- Disky na testovanie antimikrobiálnej citlivosti voči erytromycínu (CT0020B),
- disky na testovanie antimikrobiálnej citlivosti voči cefpodoxímu (CT1612B),
- disky na testovanie antimikrobiálnej citlivosti voči ertapenému (CT1761B),
- disky na testovanie antimikrobiálnej citlivosti voči moxifloxacinu (CT1633B).

### Uchovávanie

- Produkt až do použitia uchovávať v pôvodnom obale pri teplote 2 – 12 °C.
- Produkt sa môže používať do dátumu expirácie uvedeného na štítku.
- Uchovávať mimo svetla.
- Pred použitím nechajte produkt nahriať na izbovú teplotu.
- Pred použitím neinkubujte.

### Varovania a bezpečnostné opatrenia

- Len na diagnostické použitie in vitro.
- Len na profesionálne použitie.
- Pred prvým použitím skontrolujte obal produktu.
- Produkt nepoužívajte, ak sú na obale alebo miskách viditeľné poškodenia.
- Produkt nepoužívajte po uvedenom dátume expirácie.
- Pomôcku nepoužívajte, ak sú prítomné známky kontaminácie.
- Pomôcku nepoužívajte, ak sa zmenila farba alebo ak existujú iné známky poškodenia.
- Je zodpovednosťou každého laboratória nakladať s produktom odpovedne v súlade s jeho povahou a stupňom nebezpečenstva a umožniť spracovanie alebo zlikvidovanie v súlade so všetkými platnými federálnymi, štátnymi a miestnymi predpismi. Starostlivo si prečítajte a dodržiavajte pokyny. To zahŕňa likvidáciu použitých alebo nepoužitých činidiel,



ako aj akéhokoľvek iného kontaminovaného materiálu na jedno použitie podľa postupov pre infekčné alebo potenciálne infekčné produkty. Informácie o bezpečnom zaobchádzaní s produktom a jeho likvidácii nájdete v karte bezpečnostných údajov materiálu (MSDS) ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Závažné udalosti

Akákoľvek závažná udalosť, ktorá sa vyskytla v súvislosti s pomôckou, sa musí oznámiť výrobcovi a príslušnému regulačnému orgánu, ku ktorému patrí sídlo používateľa a/alebo pacienta.

### Odber vzoriek, zaobchádzanie s nimi a ich uchovávanie

Vzorky by sa mali odoberať a malo by sa s nimi zaobchádzať podľa miestnych odporúčaných smerníc, ako napríklad normy M100 Ústavu klinických a laboratórnych noriem (CLSI).<sup>10</sup>

### Postup

Pred použitím nechajte misky a disky na testovanie antimikrobiálnej citlivosti ohriať na izbovú teplotu. Povrch agaru by pred očkovaním nemal byť nadmerne vlhký. Inokulum sa môže pripraviť použitím buď rastovej metódy, alebo metódy priamej kolónie. Pokyny špecifické pre každý testovaný organizmus nájdete v príslušných dokumentoch DIN/CLSI (Ústav klinických a laboratórnych noriem).

### Metóda CLSI (Ústav klinických a laboratórnych noriem):

- Rastová metóda:
  - Z agarovej kultúry vyberte aspoň 3 – 5 izolovaných kolónií rovnakého morfológického typu. Dotknite sa hornej časti každej kolónie slučkou a preneste ju do 4 – 5 ml vhodného bujónu, ako je tryptónový sójový bujón (TSB).
  - Bujónovú kultúru inkubujte pri teplote 35 – 37 °C, kým sa zákal nerovná alebo neprekročí úroveň 0,5 jednotiek McFarlandovho štandardu alebo jeho ekvivalentu.
  - Podľa potreby upravte zákal suspenzie sterilným fyziologickým roztokom alebo bujónom, aby ste dosiahli zákal na úrovni 0,5 jednotiek McFarlandovho štandardu. Tento krok možno vykonať vizuálne alebo pomocou fotometrickej pomôcky. Ak ho vykonávate vizuálne, na porovnanie suspenzie s McFarlandovým štandardom 0,5 jednotiek na karte s bielym pozadím a kontrastnými čiernymi čiarami použite primerané svetlo.<sup>5</sup>
- Metóda priamej kolónie: (metóda voľby pre streptokoky a stafylokoky).
  - Pripravte priamu suspenziu testovaného organizmu vo fyziologickom roztoku alebo bujóne z 18 – 24 hodinovej kultúry na neselektívnom médiu.
  - Upravte zákal suspenzie, ako je opísané v časti Rastová metóda.
- Misky s agarom naočkujte do 15 minút od prípravy suspenzie organizmov.
- Do suspenzie ponorte sterilný tampón. Otáčajte tampón na stene skúmavky nad hladinou tekutiny, aby ste odstránili prebytočnú tekutinu.
- Naočkujte povrch v troch rovinách otočením misky vždy približne o 60 stupňov.
- Nasadte viečko a nechajte misku odpočívať na stole aspoň 3 minúty, ale nie dlhšie ako 15 minút, aby sa inokulum pred aplikáciou diskov na testovanie antimikrobiálnej citlivosti absorbovalo.

- Disky aplikujte jednotlivé alebo pomocou dávkovača antimikrobiálnych diskov. Disky by nemali byť bližšie ako 24 mm od stredu k stredu disku a nemali byť umiestnené príliš blízko okraja misky. Keďže niektoré liečivo difunduje takmer okamžite, po kontakte s povrchom agaru disky nepremiestňujte. Jemne poklepte na disky sterilnou ihlou alebo kliešťami, aby ste zabezpečili úplný kontakt s povrchom agaru.
- Misku prevráťte a vložte do inkubátora do 15 minút od aplikácie disku.
  - Misky Mueller-Hintonovej agaru s ovčou krvou inkubujte aeróbne pri teplote 35 – 37 °C počas 16 – 18 hodín.  
**Poznámka:** Stafylokoky a enterokoky vyžadujú inkubáciu po celých 24 hodín. Metecilín-rezistentné stafylokoky (MRS) sa pri inkubačných teplotách vyšších ako 35 °C nemusia detegovať.
  - Druh *Streptococcus* spp. inkubujte v 5 – 7 % CO<sub>2</sub> pri teplote 35 – 37 °C počas 20 – 24 hodín.
  - Inkubačné časy, teploty a atmosféry pre náročné alebo zriedkavo izolované baktérie nájdete v dokumente CLSI M45 (Ústav klinických a laboratórnych noriem).<sup>19</sup>

### Interpretácia

Po 16 – 24 hodinách inkubácie pri teplote 35 – 37 °C vykazuje baktéria *S. pneumoniae* na krvnom agare typicky 1 – 2 mm kolónie a α-hemolýzu. *S. pneumoniae* sa môže prejavovať aj ako „kresliarske“ kolónie s prehĺbeným stredom a vyvýšeným okrajom.

### Kontrola kvality

Je zodpovednosťou používateľa vykonať testovanie kontroly kvality s ohľadom na zamýšľané použitie média a v súlade so všetkými miestnymi platnými predpismi (frekvencia, počet kmeňov, inkubačná teplota atď.).

Podmienky inkubácie: 18 ± 2 h pri teplote 36 ± 1 °C v atmosfére obohatenej o oxid uhličitý

Mikroorganizmus	Antibiotický disk	Priemer zóny inhibície (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> číslo ATCC® 49619	Erytromycín (E15)	26 – 32
	Cefpodoxím (CPD 10)	29 – 35
	Ertapeném (ETP 10)	28 – 34
	Moxifloxacín (MXF 5)	24 – 30
<i>Haemophilus influenzae</i> číslo ATCC® 49766	Erytromycín (E15)	10 – 16
	Cefpodoxím (CPD 10)	30 – 36
	Moxifloxacín (MXF 5)	30 – 36

### Obmedzenia

Organizmy s atypickými enzýmovými vzorcami môžu na Mueller-Hintonovej agare s konskou krvou spôsobiť abnormálne reakcie.

### Charakteristika výkonu

Presnosť bola preukázaná preskúmaním údajov kontroly kvality. Správna detekcia náročných mikroorganizmov sa overuje zahrnutím dobre charakterizovaného izolátu do procesov kontroly kvality vykonávaných ako súčasť výroby každej šarže pomôcky. Presnosť Mueller-Hintonovej agaru s konskou krvou (PB5303A) bola preukázaná celkovou mierou úspešnosti 99,7 % získanou pre produkt počas 11-ročného obdobia (2010 – 2021, 3 439 šarží). To dokazuje, že je výkon reprodukovateľný.






Výkon sa hodnotí ako priemer zóny inhibície meraný na testovacom médiu s použitím diskov na testovanie antimikrobiálnej citlivosti Thermo Scientific™ Oxoid™ v porovnaní so špecifikovanými priermi podľa normy CLSI M100 (Ústav klinických a laboratórných noriem).<sup>10</sup>

Inokulum sa pripraví z pracovných kultúr, zriedi sa, aby sa získali špecifikované úrovne inokula, a naočkuje sa testovacie médium. Antibiotické disky sa vkladajú v rovnakom poradí a koncentráciách, ako sú uvedené v pláne kontroly pre médium. Po inkubácii pri teplote 34 – 36 °C počas 16 – 20 hodín v 4 – 6 % CO<sub>2</sub> sa zmeria priemer zóny inhibície testovaných organizmov a môžu sa generovať výsledky a závery.

### Zdroje

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

### Vysvetlenie symbolov

Symbol	Definícia
	Katalógové číslo
	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Kód šarže
	Teplotný limit
	Dátum spotreby

	Chráňte pred slnečným svetlom
	Nepoužívajte opakovane
	Pozrite si návod na použitie alebo si pozrite elektronický návod na použitie
	Obsahuje dostatočné množstvo na <n> testov
	Nepoužívajte, ak je balenie poškodené, a pozrite si návod na použitie
	Výrobca
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/ Európskej únii
	Európska značka zhody
	Značka zhody Spojeného kráľovstva
	Jedinečný identifikátor pomôcky

ATCC Licensed Derivative<sup>®</sup>

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Všetky práva vyhradené.  
 ATCC a katalógové značky ATCC sú ochrannou známkou American Type Culture Collection.  
 CLSI je ochranná známka Ústavu klinických a laboratórných noriem.  
 Všetky ostatné ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jej pridružených spoločností.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England



Ak potrebujete technickú pomoc, kontaktujte svojho miestneho distribútora.

### Informácie o revíziách dokumentu

Verzia	Dátum vydania a zavedené úpravy
1.0	02.11.2022. Nový dokument. (V PLATNOSTI)



www.thermofisher.com

# Thermo

## SCIENTIFIC

métodos de control mediante los cuales las combinaciones críticas de antimicrobianos/organismos debían dar lugar a zonas de inhibición uniformes dentro de dos mm de los diámetros especificados en el estándar. El resultado de este esfuerzo cooperativo es que ahora el agar Mueller-Hinton es un medio estándar.

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

**REF** PB5303A

### Uso previsto

El agar Mueller-Hinton con sangre de caballo es un agar para susceptibilidad antimicrobiana recomendado para realizar pruebas de difusión en disco y CIM sobre microorganismos exigentes aislados a partir de muestras clínicas.

El dispositivo es exclusivamente para uso profesional, no está automatizado y no es un diagnóstico complementario.

### Resumen y explicación

Los estreptococos son cocos grampositivos que habitan en una amplia gama de nichos ecológicos, desde especies no patógenas utilizadas en la industria de fabricación de yogures hasta miembros comensales del microbioma oral de los mamíferos y patógenos humanos invasivos<sup>1,2,3</sup>. Es posible clasificar los estreptococos mediante serotipificación basada en la composición de carbohidratos de la pared celular en los grupos de Lancefield A a S, y los estreptococos que no son de Lancefield<sup>1,2,3</sup>. Los estreptococos no Lancefield no se pueden agrupar mediante la serotipificación de Lancefield e incluyen una amplia gama de especies patógenas, entre las cuales se considera *S. pneumoniae* como el patógeno más relevante para los humanos<sup>1,2,3</sup>.

Una serie de directrices del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) y Public Health England (PHE) describen *S. pneumoniae* como una de las principales causas de meningitis e infecciones del torrente sanguíneo, ambas enfermedades invasivas asociadas con una alta morbilidad y mortalidad<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* es un organismo notificable, lo que significa que la infección con este patógeno tiene tal importancia clínica que la ley exige informar del diagnóstico de estas enfermedades a la autoridad gubernamental PHE<sup>3,9</sup>. El estatus de *S. pneumoniae* como microorganismo notificable destaca la importancia de la vigilancia de las infecciones para identificar futuros brotes de enfermedades y reducir la morbilidad y mortalidad potenciales<sup>10,11</sup>.

### Principio del método

El agar Mueller-Hinton ha recibido críticas debido a la variación en el rendimiento entre distintos fabricantes y lotes del medio. Estos efectos se mostraron de la forma siguiente:

- (1) Variaciones de la concentración mínima inhibitoria (CMI) con aminoglucósidos frente a *Pseudomonas aeruginosa* y tetraciclina frente a *Staphylococcus*. Esto se puede deber a las distintas concentraciones de los cationes divalentes de calcio y magnesio.
- (2) Variación en el contenido de timina y timidina, que afecta los valores de CMI de sulfonamida y trimetoprima.
- (3) Diferencias en las características del agar utilizado en el medio, especialmente las propiedades de difusión.

A la luz de las críticas, el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (anteriormente NCCLS) convocó a los fabricantes interesados para hablar sobre la normalización y estabilización del agar Mueller-Hinton. Se establecieron

El CLSI y el Comité Europeo de Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST) recomiendan el agar Mueller-Hinton con suplementos para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de cepas no exigentes. Se añaden suplementos para que resulte adecuado para cepas más exigentes.

### Fórmula típica

	gramos por litro
Res, infusión deshidratada de	300,0
Hidrolizado de caseína	17,5
Almidón	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Sangre de caballo desfibrinada	50,0 ml

### Apariencia física

Color	Rojo distintivo
Claridad	Opaco
Peso de relleno	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Materiales suministrados

PB5303A: 10 placas de 90 mm de agar Mueller Hinton con sangre de caballo

Cada placa es de un solo uso exclusivamente.

### Materiales necesarios pero no suministrados

- Asas de inoculación
- Hisopos
- Recipientes de recogida
- Incubadoras
- Organismos de control de calidad

### Materiales opcionales

- Discos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana a eritromicina (CT0020B)
- Discos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana a cefpodoxima (CT1612B)
- Discos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana a ertapenem (CT1761B)
- Discos de prueba de susceptibilidad antimicrobiana a moxifloxacino (CT1633B)

### Almacenamiento

- Almacenar el producto en su envase original a 2 °C-12 °C hasta que se vaya a utilizar.
- El producto se puede utilizar hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Almacenar protegido de la luz.
- Deje que el producto se temple a temperatura ambiente antes de usarlo.
- No incubar antes de usar.

### Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico in vitro exclusivamente.
- Para uso profesional exclusivamente.
- Inspeccionar el envase del producto antes del primer uso.
- No utilizar el producto si hay daños visibles en el envase o las placas.
- No utilizar el producto más allá de la fecha de caducidad indicada.
- No utilizar el dispositivo si presenta signos de contaminación.

- No utilizar el dispositivo si el color ha cambiado o hay otros signos de deterioro.
- Es responsabilidad de cada laboratorio manejar los residuos generados de acuerdo con su naturaleza y grado de peligrosidad y tratarlos o eliminarlos según los reglamentos federales, estatales y locales aplicables. Es necesario leer las instrucciones y seguirlas atentamente. Esto incluye la eliminación de reactivos usados o sin usar, así como cualquier otro material desechable contaminado según los procedimientos para productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Consulte las instrucciones de manipulación y eliminación segura del producto en la Hoja de datos de seguridad del material (MSDS) ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Incidentes graves

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto se debe notificar al fabricante y a la autoridad reguladora pertinente donde esté establecido el usuario o el paciente.

### Recogida, manipulación y almacenamiento de muestras

Es necesario recoger y manipular las muestras según las directrices locales recomendadas, como la norma CLSI M100<sup>10</sup>.

### Procedimiento

Deje que las placas y los discos de susceptibilidad antimicrobiana se templen a temperatura ambiente antes de usarlos. La superficie del agar no debe tener exceso de humedad antes de la inoculación.

Es posible preparar el inóculo utilizando el método de crecimiento o el método de colonias directas. Consulte los documentos DIN/CLSI correspondientes para conocer las pautas específicas de cada organismo de prueba.

### Método CLSI:

- Método de crecimiento:
  - Seleccione al menos 3-5 colonias aisladas del mismo tipo de morfología del cultivo en agar. Toque la parte superior de cada colonia con un asa y transfírela a 4-5 ml de un medio de caldo adecuado, como caldo de triptona de soja (TSB).
  - Incube el caldo de cultivo a 35-37 °C hasta que la turbidez sea igual o superior a 0,5 McFarland o equivalente.
  - Si es necesario, ajuste la turbidez de la suspensión con solución salina estéril o caldo para lograr la turbidez del estándar de 0,5 McFarland. Este paso se puede realizar visualmente o con un dispositivo fotométrico. Si se realiza visualmente, use la luz adecuada para comparar la suspensión con McFarland 0,5 contra una tarjeta con un fondo blanco y líneas negras a contraste<sup>5</sup>.
- Método de colonia directa: (Método de elección para estreptococos y estafilococos).
  - Prepare una suspensión directa del organismo de prueba en solución salina o caldo de un cultivo de 18-24 horas en medios no selectivos.
  - Ajuste la turbidez de la suspensión como se describe en Método de crecimiento.
- Inocule las placas de agar dentro de los 15 minutos siguientes a la preparación de la suspensión del microorganismo.

- Sumerja un hisopo estéril en la suspensión. Haga girar el hisopo contra el costado del tubo por encima del nivel del líquido para eliminar el exceso de líquido.
- Inocule la superficie en tres planos girando la placa aproximadamente 60 grados cada vez.
- Vuelva a colocar la tapa y deje reposar la placa encima de la mesa por lo menos 3 minutos, pero no más de 15 minutos, para que se absorba el inóculo antes de aplicar los discos de susceptibilidad antimicrobiana.
- Aplique los discos individualmente o con un dispensador de discos antimicrobianos. Los discos no deben estar a menos de 24 mm de centro a centro y no deben estar demasiado cerca del borde de la placa. Debido a que algunos fármacos se difunden casi instantáneamente, no corria la ubicación de un disco una vez que haya entrado en contacto con la superficie del agar. Golpee suavemente los discos con una aguja o unas pinzas estériles para garantizar el contacto completo con la superficie del agar.
- Invierta la placa y colóquela en la incubadora dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.
  - Incube las placas de agar Mueller-Hinton con sangre de oveja en condiciones aeróbicas a 35-37 °C durante 16-18 horas. **Nota:** Los estafilococos y los enterococos requieren una incubación de 24 horas completas. Los estafilococos resistentes a la metilicina (MRS) pueden no ser detectados a temperaturas de incubación superiores a 35 °C.
  - Incube las especies de *Streptococcus* en CO<sub>2</sub> al 5-7 % a 35-37 °C durante 20-24 horas.
  - Consulte el documento M45 del CLSI para conocer los tiempos de incubación, las temperaturas y las atmósferas para bacterias exigentes o aisladas con poca frecuencia<sup>19</sup>.

### Interpretación

Después de 16-24 horas de incubación a 35-37 °C, *S. pneumoniae* suele presentar colonias de 1-2 mm con hemólisis  $\alpha$  en agar sangre. *S. pneumoniae* también puede aparecer en forma de colonias esbozadas con el centro deprimido y el borde elevado.

### Control de calidad

Es responsabilidad del usuario realizar las pruebas de control de calidad teniendo en cuenta el uso previsto del medio y de acuerdo con las normativas locales aplicables (frecuencia, número de cepas, temperatura de incubación, etc.).

Condiciones de incubación: 18 ± 2 h a 36 °C ± 1 °C en una atmósfera enriquecida en dióxido de carbono

Microorganismo	Disco antibiótico	Diámetro de la zona de inhibición (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Eritromicina (E15)	26-32
	Cefpodoxima (CPD 10)	29-35
	Ertapenem (ETP 10)	28-34
	Moxifloxacina (MXF5)	24-30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Eritromicina (E15)	10-16
	Cefpodoxima (CPD 10)	30-36
	Moxifloxacina (MXF5)	30-36

## Limitaciones

Los organismos con patrones enzimáticos atípicos pueden dar lugar a reacciones anómalas en agar Mueller-Hinton con sangre de caballo.

## Características de rendimiento

Se ha demostrado la precisión mediante la revisión de los datos de control de calidad. La detección correcta de microorganismos de cultivo exigente se confirma mediante la inclusión de aislados bien caracterizados en los procesos de control de calidad realizados como parte de la fabricación de cada lote del dispositivo. Se ha demostrado la precisión del agar Mueller-Hinton con sangre de caballo (PB5303A) mediante una tasa general de corrección del 99,7 % obtenida con el producto durante un período de 11 años (2010-2021; 3439 lotes). Esto demuestra que el rendimiento es reproducible.




El rendimiento se evalúa como el diámetro de la zona de inhibición medido en el medio de prueba utilizando discos de susceptibilidad antimicrobiana Thermo Scientific™ Oxoid™, en comparación con los diámetros especificados en el estándar CLSI M100<sup>10</sup>.

El inóculo se prepara a partir de cultivos de trabajo, se diluye para obtener los niveles de inóculo especificados y se inocula el medio de prueba. Los discos de antibióticos se cargan en el mismo orden y en las mismas concentraciones que aparecen en el plan de inspección del medio. Después de la incubación a 34-36 °C durante 16-20 horas en CO<sub>2</sub> al 4-6 %, se mide el diámetro de la zona de inhibición de los microorganismos de prueba y se pueden crear los resultados y las conclusiones.

## Bibliografía

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management." UK Standards for Microbiology Investigations.
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management." UK Standards for Microbiology Investigations.
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsiTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi." UK Standards for Microbiology Investigations.
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

## Legenda de símbolos

Símbolo	Definición
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Código de lote
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Mantener alejado de la luz solar
	No reutilizar
	Consultar las instrucciones de uso o consultar las instrucciones de uso electrónicas
	Contiene la cantidad suficiente para <n> pruebas
	No utilizar si el paquete está dañado y consultar las instrucciones de uso
	Fabricante
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/ Unión Europea
	Evaluación de conformidad europea
	Evaluación de la conformidad para el Reino Unido
	Identificador único de dispositivo



© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados.

ATCC y las marcas del catálogo de ATCC son marcas registradas de American Type Culture Collection. CLSI es una marca comercial del Clinical Laboratory and Standards Institute.

Todas las demás marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific Inc. y sus filiales.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Inglaterra



Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local.

### Información de revisiones

<b>Versión</b>	<b>Fecha de publicación y modificaciones introducidas</b>
1.0	2022-11-02. Documento nuevo. (VIGENTE)



www.thermofisher.com

**Thermo**  
SCIENTIFIC

Mueller-Hinton-agar med tillskott rekommenderas både av CLSI och europeiska kommittén för resistensbestämning (EUCAST) för att testa icke-krävande stammar. Tillskott läggs till för att göra den lämplig för mer krävande stammar.

## Mueller Hinton Agar with Horse Blood

REF PB5303A

### Avsedd användning

Mueller-Hinton Agar with Horse Blood är en antimikrobiell mottaglighetsagar som rekommenderas för diskdiffusion och MIC-testning för krävande mikroorganismer isolerade från kliniska prover.

Produkten är endast avsedd för professionellt bruk, är inte automatiserad och är inte ett kompletterande diagnostikverktyg.

### Sammanfattning och förklaring

Streptokocker är grampositiva kocker som lever i ett brett spektrum av ekologiska nischer, från icke-patogena arter som används i yoghurttillverkningsindustrin, till kommensala medlemmar av däggdjurets orala mikrobiom och invasiva mänskliga patogener.<sup>1,2,3</sup> Streptokocker kan klassificeras genom serotypning baserad på cellväggskolhydratsammansättning i Lancefield-grupperna A till S, och icke-Lancefield-streptokockerna<sup>1,2,3</sup>. Icke-Lancefield-streptokocker kan inte grupperas efter Lancefield-serotypning och inkluderar ett brett spektrum av icke-patogena och patogena arter, och *S. pneumoniae* anses vara den viktigaste mänskliga patogenen<sup>1,2,3</sup>.

Ett antal riktlinjer från National Institute for Health and Care Excellence (NICE) och Public Health England (PHE) beskriver *S. pneumoniae* som en av de främsta orsakerna till hjärnhinneinflammation och blodomloppsinfektioner, båda är invasiva sjukdomar associerade med hög sjuklighet och dödlighet<sup>3,4,5,6,7,8</sup>. *S. pneumoniae* är en anmälningspliktig organism, vilket innebär att infektion med denna patogen är av sådan klinisk betydelse att det enligt lag är obligatoriskt att rapportera diagnos av de här sjukdomarna till Folkhälsomyndigheten<sup>3,9</sup>. Status för *S. pneumoniae* som anmälningspliktig organism betonar vikten av infektionsövervakning för att identifiera framtida sjukdomsutbrott och minska potentiell sjuklighet och dödlighet<sup>10,11</sup>.

### Metodprinciper

Mueller-Hinton-agar har kritiserats på grund av variationer i prestanda mellan tillverkare och batcher. Effekterna visades som:

(1) Variationer i minsta hämningskoncentration (MIC) med aminoglykosider mot *Pseudomonas aeruginosa* och tetracyklin mot stafylokokker. Det kan ha berott på olika koncentrationer av de tvåvärda katjonerna av kalcium och magnesium.

(2) Variation i tymin- och tymidinhalt som påverkar MIC-värdena för sulfonamid och trimetoprim

(3) Skillnader i egenskaperna hos den agar som används i mediet, speciellt diffusionsegenskaper

Mot bakgrund av kritiken kallade Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (tidigare NCCLS) samman intresserade tillverkare för att diskutera standardisering och stabilisering av Mueller-Hinton-agar. Kontrollmetoder etablerades där kritiska antimikrobiella-/organismkombinationer måste ge konsekventa hämningszoner inom två mm från de specificerade diametrarna i standarden. Resultatet av det här samarbetet är att Mueller-Hinton-agar nu är ett standardmedium.

### Typisk formel

	gram per liter
Dehydrerad infusion från nötkött	300,0
Kaseinhydrolysat	17,5
Stärkelse	1,5
NAD	0,02
Agar	17,0
Defibrinerat hästblod	50,0 ml

### Fysiskt utseende

Färg	Signalröd
Klarhet	Ogenomskinlig
Fyllnadsvikt	23,5 ± 5%
pH	7,3 ± 0,1

### Bifogat material

PB5303A: 10 x 90 mm Mueller Hinton Agar with Horse Blood-plattor

Varje platta får endast användas en gång.

### Material som krävs men inte tillhandahålls

- Inokuleringsöglor
- Provpinnar
- Insamlingsbehållare
- Inkubatorer
- Organismer för kvalitetskontroll

### Valfria material

- Erythromycin antimicrobial susceptibility discs (CT0020B)
- Cefpodoxime antimicrobial susceptibility discs (CT1612B)
- Ertapenem antimicrobial susceptibility discs (CT1761B)
- Moxifloxacin antimicrobial susceptibility discs (CT1633B)

### Förvaring

- Förvara produkten i originalförpackningen vid 2–12 °C tills den ska användas.
- Produkten får användas fram till det utgångsdatum som anges på etiketten.
- Förvaras mörkt.
- Låt produkten uppnå rumstemperatur före användning.
- Inkubera inte före användning.

### Varningar och försiktighetsåtgärder

- Endast för in vitro-diagnostik.
- Endast för professionellt bruk.
- Inspektera produktens förpackning före första användningen.
- Använd inte produkten om det finns synliga skador på förpackningen eller plattorna.
- Använd inte produkten efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte produkten om det finns tecken på kontaminering.
- Använd inte produkten om färgen har ändrats eller om det finns andra tecken på försämring.
- Det är varje laboratoriums ansvar att hantera avfall som produceras i enlighet med avfallens typ och riskgrad samt att behandla eller kassera det i enlighet med eventuella nationella, statliga och lokala tillämpliga bestämmelser. Instruktioner ska läsas och följas noggrant. Det inkluderar kassering av använda eller oanvända reagens

samt alla andra förorenade engångsmaterial i enlighet med procedurer för smittsamma eller potentiellt smittsamma produkter.

Se materialsäkerhetsdatabladet (MSDS) för säker hantering och kassering av produkten ([www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)).

### Allvarliga incidenter

Eventuella allvarliga incidenter som inträffar i samband med användning av produkten ska rapporteras till tillverkaren och relevant tillsynsmyndighet i det område där användaren och/eller patienten är etablerad.

### Insamling, hantering och förvaring av prover

Prover ska samlas in och hanteras i enlighet med lokala föreskrifter, som CLSI-standarden M100<sup>10</sup>.

### Förfarande

Låt plattor och antimikrobiella skivor för mottaglighetstester uppnå rumstemperatur före användning. Agarytan bör inte ha överskott av fukt före inokulering. Inokulat kan framställas med antingen tillväxtmetoden eller den direkta kolonimetoden. Se lämpliga DIN-/CLSI-dokument för specifika riktlinjer för varje testorganism

#### CLSI-metod:

- Tillväxtmetod:
  - Välj minst 3–5 isolerade kolonier av samma morfologityp från agarkulturen. Rör vid toppen av varje koloni med en ögla och överför till 4–5 ml av ett lämpligt buljongmedium, som Tryptic Soy Broth (TSB)
  - Inkubera buljongkulturen vid 35–37 °C tills grumligheten är lika med eller överstiger den för en 0,5 McFarland eller motsvarande.
  - Vid behov, justera turbiditeten av suspensionen med steril koksaltlösning eller buljong för att uppnå en turbiditet med en 0,5 McFarland-standard. Det här steget kan utföras visuellt eller med hjälp av en fotometrisk anordning. Om den utförs visuellt ska tillräckliga mängder ljus användas för att jämföra suspensionen med McFarland 0,5 mot ett kort med vit bakgrund och kontrasterande svarta linjer<sup>5</sup>.
- Direkt kolonimetod: (Standardmetod för streptokocker och stafylokocker).
  - Bered en direkt suspension av testorganismen i saltlösning eller buljong från en 18–24 timmars kultur på icke-selektivt medium.
  - Justera suspensionens turbiditet enligt beskrivningen under Tillväxtmetod.
- Inokulera agarplattor inom 15 minuter efter beredningen av organismsuspensionen.
- Sänk ned en steril pinne i suspensionen. Vrid pinnen mot sidan av röret ovanför vätskenivån för att avlägsna överflödigt vätska.
- Inokulera ytan i tre plan genom att rotera plattan cirka 60 grader varje gång.
- Sätt tillbaka locket och låt plattan vila på bänken i minst tre minuter men inte längre än 15 minuter för att inokulatet ska absorberas innan du applicerar de antimikrobiella skivorna för mottaglighetstester.
- Applicera skivorna en och en eller med hjälp av en dispenser för antimikrobiella skivor. Skivan bör inte vara närmare än 24 mm från mittpunkterna och inte placeras för nära plattans kant. Flytta inte en skiva när den har kommit i kontakt med agarytan eftersom vissa läkemedel sprids nästan omedelbart. Knacka försiktigt

på skivorna med en steril nål eller pincett för att säkerställa fullständig kontakt med agarytan.

- Vänd på plattan och placera den i inkubatorn inom 15 minuter efter det att skivorna har applicerats.
  - Inkubera Mueller-Hinton Agar with Sheep Blood-plattorna vid 35–37 °C under aeroba förhållanden i 16–18 timmar.  
**Obs!** Stafylokocker och enterokocker kräver inkubation i 24 timmar. Meticillinresistenta stafylokocker (MRS) kanske inte detekteras vid inkubationstemperaturer över 35 °C.
  - Inkubera *Streptococcus* spp. i 5–7 % CO<sub>2</sub> vid 35–37 °C under 20–24 timmar.
  - Se CLSI-dokument M45 för inkubationstider, temperaturer och atmosfärer för krävande eller sällan isolerade bakterier<sup>19</sup>.

### Tolkning

Efter 16–24 timmars inkubation vid 35–37 °C uppvisar *S. pneumoniae* typiskt 1–2 mm kolonier och  $\alpha$ -hemolys på blodagar. *S. pneumoniae* kan även visas som runda kolonier med nedsänkt centrum och förhöjd kant.

### Kvalitetskontroll

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontrolltestning med hänsyn till den avsedda användningen av mediet och i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser (frekvens, antal stammar, inkubationstemperatur osv.).

Inkubationsförhållanden: 18 ± 2 timmar vid 36 ± 1 °C i en förstärkt koldioxidatmosfär

Mikroorganism	Antibiotikaskiva	Hämmningszonens diameter (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Erytromycin (E15)	26–32
	Cefpodoxim (CPD 10)	29–35
	Ertapenem (ETP 10)	28–34
	Moxifloxacin (MXF 5)	24–30
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49766	Erytromycin (E15)	10–16
	Cefpodoxim (CPD 10)	30–36
	Moxifloxacin (MXF 5)	30–36

### Begränsningar

Organismer med atypiska enzymmönster kan ge avvikande reaktioner på Mueller-Hinton Agar with Horse Blood.

### Prestandaegenskaper

Noggrannhet har visats genom granskning av kvalitetskontrolldata. Korrekt detektion av krävande mikroorganismer bekräftas genom inkludering av välkarakteriserade isolat i kvalitetskontrollprocesserna som utförs som en del av tillverkningen av varje batch av produkten. Precisionen hos Mueller-Hinton-agar med hästblod (PB5303A) påvisades med en total godkännandefrekvens på 99,7 % för produkten under 11 års testning (2010–2021, 3 439 batcher). Resultaten visar att produktens prestanda är reproducerbar.

Prestanda bedöms som hämningens zonens diameter mätt på testmediet med Thermo Scientific™ Oxoid™ Antimicrobial Susceptibility Discs jämfört med de specificerade diametrarna i CLSI-standarden M100<sup>10</sup>.

Inokulatet framställs från arbetskulturer, späds för att erhålla de angivna inokulatnivåerna och testmediet


















inokuleras. Antibiotikaskivor laddas i samma ordning och koncentrationer som de visas i inspektionsplanen för mediet. Efter inkubation vid 34–36 °C i 16–20 timmar i 4–6 % CO<sub>2</sub> mäts hämningszonens diameter för testorganismerna och resultaten och slutsatserna kan färdigställas.

### Bibliografi

1. Patterson, Maria Jevitz. 1996. "Streptococcus." In Medical Microbiology. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
2. Dion, Christopher F., and John V. Ashurst. 2020. "Streptococcus Pneumoniae." In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
3. Public Health England. 2014a. "Identification of Streptococcus Species, Enterococcus Species and Morphologically Similar Organisms." UK Standards for Microbiology Investigations.
4. Public Health England. 2014b. "Investigation of Ear Infections and Associated Specimens." UK Standards for Microbiology Investigations.
5. National Institute for Health and Care Excellence. 2019b. "Fever in under 5s: Assessment and Initial Management."
6. National Institute for Health and Care Excellence. 2010. "Meningitis (Bacterial) and Meningococcal Septicaemia in under 16s: Recognition, Diagnosis and Management."
7. National Institute for Health and Care Excellence. 2016. "SepsisTest Assay for Rapidly Identifying Bloodstream Bacteria and Fungi."
8. Public Health England. 2016. "Investigation of Pus and Exudates." UK Standards for Microbiology Investigations.
9. Public Health England. 2019. "Statutory Notification by Registered Medical Practitioners of All Hazards: Infections, Chemicals & Radiation."
10. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2020. "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing." <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.

### Symbolförklaring

Symbol	Förklaring
	Katalognummer
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Batchkod
	Temperaturgräns
	Utgångsdatum
	Skyddas från solljus
	Återanvänd inte

	Läs bruksanvisningen eller den elektroniska bruksanvisningen
	Innehåller tillräckligt för <n> tester
	Använd inte om förpackningen är skadad och läs bruksanvisningen
	Tillverkare
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen
	CE-märkning
	Bedömning av överensstämmelse i Storbritannien
	Unik enhetsidentifierare



© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Med ensamrätt. ATCC och ATCC-katalogmärkena är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection. CLSI är ett varumärke som tillhör Clinical Laboratory and Standards Institute. Alla övriga varumärken tillhör Thermo Fisher Scientific Inc. och dess dotterbolag.



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England



Kontakta lokal distributör för teknisk assistans.

### Revisionsinformation

Version	Utgivningsdatum och införda ändringar
1.0	2022-11-02. Nytt dokument (aktuell version).