

Agar Mueller Hinton E (MHE)



ZASTOSOWANIE

Badanie lekowrażliwości.

Agar Mueller Hinton E jest podłożem do badania lekowrażliwości bakterii metodą dyfuzyjno-krażkową oraz ustalania minimalnego stężenia hamującego (MIC) metodą ETEST®.

Podłoże to zostało opracowane zgodnie z zaleceniami EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) oraz CLSI (Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.).^{1,2,3,4,5,6}

WYJAŚNIENIE I ZASADA

Skład tego podłoża umożliwia wzrost bakterii niewymagających (pałeczek jelitowych, niefermentujących pałeczek Gram-ujemnych, gronkowców i enterokoków) wykrywanych w stanach patologicznych, gwarantując minimalny wpływ składników na wynik testu lekowrażliwości.^{1,2}

Stężenie jonów dwuwartościowych w agarze zapewnia warunki optymalne do badania wrażliwości na antybiotyki o aktywności zależnej od kationów. Niskie stężenie tyminy-tymidyny (inhibitory sulfonamidów) ogranicza wzrost wokół krążków, zapewniając dokładniejszy pomiar stref zahamowania wzrostu.⁷

SKŁAD PODŁOŻA

Teoretyczna zawartość składników.

Podłoże to zostało dostosowane i/lub uzupełnione zgodnie z wymaganymi kryteriami:

Pepton kazeinowy (wołowy)	17,5 g
Wyciąg mięsny (wołowy lub wieprzowy)	2 g
Skrobia ziemniaczana	1,5 g
Agar	17 g
Oczyszczona woda	1 l
pH 7,3	

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Wyłącznie do zastosowania profesjonalnego.
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego z produktem należy obchodzić się zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki, hodowle bakterii i posiane produkty należy uważać za zakaźne i odpowiednio z nimi postępować. Podczas całej procedury należy przestrzegać zasad aseptyki i typowych środków ostrożności stosowanych przy postępowaniu z badaną grupą bakterii. Informacje na ten temat znajdują się w dokumencie „CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections (Ochrona pracowników laboratoryjnych przed zakażeniami nabytymi w miejscu pracy); zatwierdzone wytyczne — bieżąca wersja”. Informacje dotyczące dodatkowych środków ostrożności znajdują się w dokumencie „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bezpieczeństwo biologiczne w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych) — CDC/NIH — najnowsze wydanie” lub w obowiązujących aktualnie regulacjach poszczególnych państw.
- Podłoży nie wolno używać jako materiału lub składników do produkcji.
- Nie używać odczynników przeterminowanych.
- Nie używać odczynników, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać przerośniętych, wyschniętych płytek ani płytek z obkurczonym podłożem.
- Użycie podłoża według standardów innych niż EUCAST lub CLSI musi być zwalidowane przez użytkownika.
- W interpretacji wyników testu trzeba wziąć pod uwagę gatunek bakterii (naturalna oporność), uwarunkowania epidemiologiczne oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów.
- Użycie krążków nasączonych antybiotykami z tym podłożem musi być zwalidowane przez użytkownika.

ODCZYNNIKI I WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIENALEŻĄCE DO ZESTAWU

Odczynniki:

- Krążki nasączone antybiotykami.
- Paski ETEST®

Materiały:

- Mikrobiologiczny sprzęt laboratoryjny ogólnego zastosowania.
- Inkubator bakteriologiczny.

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

- Płytki przechowywać w pudełku, w temperaturze od +2 °C do +8 °C, do upływu daty ważności.
- Płytki, jeśli nie są w pudełku, mogą być przechowywane przez 2 tygodnie w temperaturze +2 °C/+8 °C w opakowaniach celofanowych.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Podłoże nie jest przeznaczone do bezpośredniego posiewania materiałów biologicznych.

Należy posiewać czysty, wyizolowany szczep uzyskany z hodowli na płycie Petriego.

PROCEDURA:

Doprowadzić odczynniki do temperatury pokojowej.

Badanie lekowrażliwości metodą dyfuzyjną (z wykorzystaniem krążków)

Aby wykonać test lekowrażliwości, postępować zgodnie z aktualnymi procedurami i normami EUCAST lub CLSI.^{1,5,6}

Ustalanie wartości MIC przy użyciu metody ETEST®

Postępować zgodnie z aktualną instrukcją stosowania metody ETEST®.

WYNIKI I INTERPRETACJA**Badanie lekowrażliwości metodą dyfuzyjną (z wykorzystaniem krążków)**

- Zapoznać się z aktualnymi zaleceniami EUCAST lub CLSI.^{2,3,5,6} Zapoznać się z instrukcją odczytu EUCAST, aby uzyskać informacje na temat pomiaru średnic, szczególnie w przypadku ponownego wzrostu lub podwójnych stref.
- Po inkubacji zmierzyć średnicę strefy zahamowania wzrostu wokół krążków z antybiotykami. Wrażliwość szczepu na każdy badany antybiotyk określa się na podstawie otrzymanych wartości (S: Wrażliwy, I: Średniowrażliwy i R: Oporny).

Ustalanie wartości MIC przy użyciu metody ETEST®

Postępować zgodnie z aktualną instrukcją stosowania metody ETEST®. Zapoznać się z aktualnymi zaleceniami EUCAST lub CLSI.^{4,5}

Uwaga: W celu prawidłowej interpretacji badania należy uzyskać zlewny wzrost.

KONTROLA JAKOŚCI**Protokół:**

Działanie podłoża można sprawdzić za pomocą następujących szczepów:

- *Escherichia coli* ATCC® 25922™
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853™

Oczekiwane wyniki według norm EUCAST oraz CLSI:^(3,5)

Antybiotyk	Strefa zahamowania wzrostu (mm)	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853™
Ampicylina 10 µg	16–22	
Cyprofloksacyna 5 µg		25–33
Gentamycyna 10 µg	19–26	
Imipenem 10 µg		20–28
Tobramycyna 10 µg		20–26

Uwaga:

Kontrola jakości badania lekowrażliwości musi być prowadzona zgodnie z aktualnymi zaleceniami EUCAST lub CLSI.^{5,6}

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości, biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura inkubacji itd.).

OGRANICZENIA METODY

- Agar Mueller Hinton E jest podłożem ubogim w składniki odżywcze ze względu na standaryzację stref zahamowania wzrostu. Z tego powodu niektóre wymagające szczepy nie wyrosną na tym podłożu.
- W przypadku *Enterobacterales* badanie ETEST® Trimetoprim/sulfametoksazol (TS32) nie jest kompatybilne z agarem Mueller Hinton E, gdy stosowane są standardowe wartości graniczne wg CLSI.

WIARYGODNOŚĆ

Ocenę testu prowadzono przy użyciu szczepów do kontroli jakości zdefiniowanych przez EUCAST i CLSI oraz szczepów o znanych mechanizmach oporności, w tym mecC-dodatnich szczepów MRSA.^{3,5,8}

Badanie lekowrażliwości metodą dyfuzyjną (z wykorzystaniem krążków)

Szczepy do kontroli jakości

Zgodnie z zaleceniami EUCAST:

Cztery (4) szczepy do kontroli jakości (*E. coli* ATCC® 25922™, *S. aureus* ATCC® 29213™, *P. aeruginosa* ATCC® 27853™ oraz *E. faecalis* ATCC® 29212™) badano zgodnie z zalecanymi kombinacjami.³

98% ze 91 badanych kombinacji dało satysfakcjonujące wyniki.

Zgodnie z zaleceniami CLSI:

Cztery (4) szczepy do kontroli jakości (*E. coli* ATCC® 25922™, *S. aureus* ATCC® 25923™, *P. aeruginosa* ATCC® 27853™ oraz *E. coli* ATCC® 35218™) badano zgodnie z zalecanymi kombinacjami pod kątem następujących antybiotyków:

Kwas fusydowy	Imipenem
Kwas nalidyksowy	Kanamycyna
Amikacyna	Lewofloksacyna
Amoksycylina + kwas klawulanowy	Linezolid
Ampicylina	Mecylinam
Ampicylina + sulbaktam	Meropenem
Azytromycyna	Minocyklina
Aztreonam	Moksifloksacyna
Cefepim	Netilmycyna
Cefiksym	Nitrofurantoina
Cefotaksym	Norfloksacyna
Cefoksytyna	Ofloksacyna
Cefpodoksym	Penicylina
Ceftazydym	Piperacylina
Ceftibuten	Piperacylina + tazobaktam
Ceftriakson	Polimyksyna B
Cefuroksym	Chinuprystyna / dalfoprystyna
Cefalotyna	Rifampicyna
Chloramfenikol	Teikoplanina
Cyprofloksacyna	Telitromycyna
Klarytromycyna	Tetracyklina
Klindamycyna	Tikarcylina
Kolistyna	Tikarcylina + kwas klawulanowy
Dorypenem	Tigecyklina
Doksycyklina	Tobramycyna
Ertapenem	Trimetoprim
Erytromycyna	Trimetoprim + sulfametoksazol
Fosfomycyna	Wankomycyna

Gentamycyna	
-------------	--

98% ze 125 badanych kombinacji dało satysfakcjonujące wyniki.

Szczepy o znanych mechanizmach oporności

Na podłożu MHE badano 31 szczepów i 30 antybiotyków. Wykryto wszystkie spodziewane mechanizmy oporności.

Ustalanie wartości MIC przy użyciu metody ETEST®

Szczepy do kontroli jakości

Pięć (5) szczepów do kontroli jakości (*E. coli* ATCC® 25922™, *S. aureus* ATCC® 29213™, *P. aeruginosa* ATCC® 27853™, *E. faecalis* ATCC® 29212™ oraz *E. coli* ATCC® 35218™) badano zgodnie z zalecanymi kombinacjami pod kątem następujących antybiotyków:

Kwas fusydowy	Enrofloksacyna
Kwas nalidyksowy	Ertapenem
Amikacyna	Erytromycyna
Amoksycylina	Fosfomycyna
Amoksycylina + kwas klawulanowy	Gatifloksacyna
Ampicylina	Gentamycyna 256
Ampicylina + sulbaktam	Gentamycyna 1024
Azytromycyna	Imipenem
Aztreonam	Kanamycyna
Bacytracyna	Lewofloksacyna
Penicylina benzylowa 32	Linezolid
Penicylina benzylowa 256	Mecylinam
Cefaklor	Meropenem
Cefalotyna	Minocyklina
Cefepim	Moksifloksacyna
Cefiksym	Mupirocyna
Cefoperazon + sulbaktam	Netylmycyna
Cefotaksym 32	Nitrofurantoina
Cefotaksym 256	Norfloksacyna
Cefotetan	Ofloksacyna
Cefoksytyna	Piperacylina
Cefpirom	Piperacylina + tazobaktam
Cefpodoksym	Polimyksyna B
Ceftarolina	Chinuprystyna / dalfoprystyna
Ceftazydym	Rifampicyna
Ceftyzoksym	Spektynomycyna
Ceftriakson 32	Streptomycyna
Ceftriakson 256	Sulfametoksazol
Cefuroksym	Teikoplanina
Chloramfenikol	Tetracyklina
Cyprofloksacyna	Tikarcylina + kwas klawulanowy
Klarytromycyna	Tigecyklina
Klindamycyna	Tobramycyna
Kolistyna	Trimetoprim
Daptomycyna	Trimetoprim + sulfametoksazol
Dorypenem	Wankomycyna

Doksycyklina	
--------------	--

98,9% ze 189 badanych kombinacji dało satysfakcjonujące wyniki.

Wartości MIC poniżej 0,064 µg/ml można uzyskać w przypadku minocykliny i szczepu do kontroli jakości *S. aureus* ATCC® 29213™.

Wartości MIC poniżej 0,064 µg/ml można uzyskać w przypadku klindamycyny i szczepu do kontroli jakości *S. aureus* ATCC® 29213™.

Szczepy o znanych mechanizmach oporności

Osiem (8) szczepów do kontroli jakości (*E. coli* ATCC® 35218™, *K. pneumoniae* ATCC® 700603™, *K. pneumoniae* ATCC® BAA-2146™, *K. pneumoniae* ATCC® BAA-1144™, *S. maltophilia* ATCC® 13636™, *S. aureus* ATCC® 43300™, *E. faecalis* ATCC® 51299™ oraz *E. faecalis* ATCC® 33186™) badano zgodnie z zalecanymi kombinacjami pod kątem następujących antybiotyków:

ESBL — cefepim PM/PML	Cefoksytyna
ESBL — cefotaksim CT/CTL	Gentamycyna 1024
ESBL — ceftazydim TZ/TZL	Streptomycyna 1024
MBL — imipenem IP/IPI	
MBL — meropenem MP/MPI	

Na podłożu MHE badano 31 szczepów o znanych mechanizmach oporności i 30 antybiotyków. Za pomocą metody ETEST® wykryto wszystkie oczekiwane mechanizmy oporności.

UTYLIZACJA ODPADÓW

Niezużyte odczynniki mogą być traktowane jako odpady niestwarzające ryzyka i odpowiednio utylizowane.

Zużytych odczynników, jak i zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.







Za obchodzenie się i składowanie wytworzonych odpadów oraz ścieków odpowiedzialne jest laboratorium, które musi traktować je i składować (lub powierzyć do składowania) stosownie do stopnia ich niebezpieczeństwa oraz zgodnie z odpowiednimi regulacjami prawnymi.

LITERATURA

1. EUCAST Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – version 2.1, February 2012 (EUCAST: Badanie lekowrażliwości drobnoustrojów metodą dyfuzyjno-krażkową — wersja 2.1, luty 2012) (www.eucast.org).
2. EUCAST Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – Reading guide – version 2.0, February 2012 (EUCAST: Badanie lekowrażliwości drobnoustrojów metodą dyfuzyjno-krażkową — Instrukcja odczytu — wersja 2.0, maj 2012) (www.eucast.org).
3. EUCAST Routine internal quality control as recommended by EUCAST – version 3.1, February 2013 (EUCAST: Rutynowa wewnętrzna kontrola jakości wg zaleceń EUCAST — wersja 3.1, luty 2013) (www.eucast.org).
4. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters – version 3.1, February 2013 (EUCAST: Tabele wartości granicznych na potrzeby interpretacji wartości MIC i średnic stref — wersja 3.1, luty 2013) (www.eucast.org).
5. CLSI Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing – M100-S23 – January 2013 (CLSI: Normy oceny badania lekowrażliwości drobnoustrojów — M100-S23 — styczeń 2013).
6. CLSI Performance Standards for antimicrobial disks susceptibility tests – M02-A11 – 2012 (CLSI: Normy oceny testów lekowrażliwości drobnoustrojów wykonywanych metodą krążkową — M02-A11 — 2012).
7. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. – Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests – *J. Clin. Microbiol.*, 1983 Nov; 18(5): 1269–1271.
8. RHOD LARSEN A., PETERSEN A., HOLMES M. *et al.* – Utility of a newly developed Mueller Hinton E agar for the detection of MRSA carrying the novel *mecA* homologue *mecC* – *J. Antimicrob. Chemother.*, doi: 10.1093/jac/dku512.
9. Statement - NA - 2018-11 - 413822 - 413824 - 413825 - Certificate of Compatibility.pdf - <http://www.biomerieux.com/techlib>.

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
REF	Numer katalogowy

Symbol	Znaczenie
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>In Vitro</i>
	Wytwórca
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji użycia.
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Data produkcji

OGRANICZONA GWARANCJA

Firma bioMérieux gwarantuje poprawne działanie produktu zgodnie z jego wskazanym zastosowaniem, pod warunkiem ścisłego przestrzegania wszelkich procedur użycia, przechowywania i obsługi, czasu przydatności do użycia (jeśli dotyczy) oraz środków ostrożności opisanych w instrukcji użycia (IFU).

Z wyjątkiem wyraźnie określonej gwarancji, wskazanej powyżej, firma bioMérieux niniejszym wyłącza wszelkie gwarancje, w tym wszelkie domniemane gwarancje przydatności handlowej i przydatności do określonego celu lub zastosowania, oraz wyłącza wszelką odpowiedzialność, bezpośrednią, pośrednią lub wynikową, za jakiegokolwiek użycie odczynnika, oprogramowania, urządzenia i materiałów eksploatacyjnych („System”) w sposób inny niż wskazano w instrukcji użycia (IFU).

OPAKOWANIE**Podłoża gotowe do użytku**

REF	Jednostki/Opakowanie	Rozmiar płytki	Nazwa skrócona (wydrukowano na każdej płytce)
413822	płytki 2×10	90 mm	MHE
413824	płytki 10×10	90 mm	MHE
413825	płytki 4×5	120 x 120 mm	MHE

1 ulotka techniczna do pobrania na stronie: www.biomerieux.com/techlib.

HISTORIA ZMIAN

Kategorie typów zmian

nd.	Nie dotyczy (pierwsze wydanie)
Poprawka	Poprawka nieprawidłowości w dokumentacji
Zmiana techniczna	Uzupełnienie, korekta i/lub usunięcie informacji dotyczących produktu
Zmiana administracyjna	Wdrożenie zmian innych niż techniczne, istotnych dla użytkownika

Uwaga: Historia zmian nie zawiera drobnych zmian graficznych, gramatycznych oraz dotyczących formatowania.

Data wydania	Numer partii	Typ zmiany	Podsumowanie zmiany
2016/02	20121D	Administracyjna	Tabela symboli
		Zmiana techniczna	Wiarygodność
2018/03	20121E	Administracyjna	Zawartość zestawu (usunięto odniesienie do produktu 413823)

Data wydania	Numer partii	Typ zmiany	Podsumowanie zmiany
2019-09	043254-03	Administracyjna	Zmiany formatu i sposobu zapisu treści. Zaktualizowane części: Zastosowanie / Wyjaśnienie i zasada / Odczynniki i wyposażenie wymagane nienależące do zestawu / Ostrzeżenia i środki ostrożności / Materiał do badań / Procedura: / Wyniki i interpretacja / Wiarygodność / Opakowanie
		Zmiana techniczna	Wyniki i interpretacja / Ograniczenia metody / Literatura

BIOMERIEUX, logo BIOMERIEUX oraz ETEST są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

Znak towarowy ATCC i nazwa handlowa oraz wszelkie numery katalogowe ATCC są znakami towarowymi należącymi do American Type Culture Collection.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Jakiegolwiek inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.