

**Agar Mueller Hinton 5% krwi końskiej + 20 mg/l  $\beta$ -NAD (MHF)**

IVD

**Zastosowanie****Badanie lekowrażliwości drobnoustrojów wymagających.**

Podłoże do badania lekowrażliwości drobnoustrojów wymagających (pneumokoków i innych paciorkowców, *Haemophilus*, *Moraxella*, *Campylobacter*, *Pasteurella*, *Listeria monocytogenes* i *Corynebacterium*).

Podłoże to opracowano zgodnie z rekomendacjami EUCAST [European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing].<sup>1,2,3,4</sup>

**Wyjaśnienie i zasada**

Skład tego podłoża umożliwia wzrost bakterii wymagających, gwarantując równocześnie minimalny wpływ składników na wynik testu lekowrażliwości.<sup>4</sup>

**Skład podłoża****Teoretyczna zawartość składników.**

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

Pepton kazeinowy (wołowy)	20,5 g
Ekstrakt mięsny (wołowy)	0,3 g
Skrobia ziemniaczana* (roślinna)	0,5 g
Agar* (roślinna)	15,5 g
Krew* (końska)	50 ml
$\beta$ -NAD	0,02 g
Oczyszczona woda	1 l
pH 7,3	

\* Surowiec krytyczny

**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 wolno używać płytek zanieczyszczonych, zhemolizowanych lub zawierających nadmierną ilość wilgoci.
- Użycie podłoża według innych standardów niż EUCAST musi być zwalidowane przez użytkownika.
- Użycie krążków nasączonych antybiotykami z tym podłożem 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.

## Odczynniki i wyposażenie wymagane nienależące do zestawu

### Odczynniki:

- Krążki nasączone antybiotykami.

### Materiały:

- Mikrobiologiczny sprzęt laboratoryjny ogólnego zastosowania.
- Inkubator z termoregulacją i kontrolowaną atmosferą.
- Generatory kontrolowanej atmosfery.
- Pojemniki do hodowli.
- Inkubator bakteriologiczny.

## Warunki przechowywania

- Płytki przechowywać w pudełku, w temperaturze +2 °C/+8 °C do upłynięcia 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 na nie posiewać wykalibrowane inokulum z czystej hodowli szczepu wyizolowanego na podłożu stałym.

### Procedura:

1. Doprowadzić odczynniki do temperatury pokojowej.
2. Aby wykonać test lekowrażliwości postępować zgodnie z aktualnymi procedurami i zaleceniami EUCAST.<sup>1</sup>

## Wyniki i interpretacja

- Zgodnie z zaleceniami EUCAST.<sup>2</sup>
- 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).
- Mierzyć należy wyłącznie strefę zahamowania wzrostu bakterii, a nie strefę hemolizy obserwowaną u niektórych szczepów.<sup>1</sup>

### Uwaga:

W celu prawidłowej interpretacji badania należy uzyskać zlewny wzrost.

## Kontrola jakości

### Protokół:

Działanie podłoża można sprawdzić za pomocą następujących szczepów:

- *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619™
- *Haemophilus influenzae* ATCC® 49766™
- *Campylobacter jejuni* ATCC® 33560™

**Tabela 1: Zakres spodziewanych wyników zgodnie z zaleceniami EUCAST:<sup>3</sup>**

Antybiotyk	Strefa zahamowania wzrostu (mm)		
	<i>S. pneumoniae</i> ATCC® 49619™	<i>H. influenzae</i> ATCC® 49766™	<i>C. jejuni</i> ATCC® 33560™
Erytromycyna 15 $\mu$ g	26–32	–	–
Ampicylina 2 $\mu$ g	–	19–25	–
Kwas nalidyksowy 30 $\mu$ g	–	26–32	–
Tetracyklina 30 $\mu$ g	–	–	30–38

Kontrolę jakości testu lekowrażliwości należy prowadzić zgodnie z zaleceniami EUCAST.<sup>1,3</sup>

#### Uwaga:

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

- Mimo dodatku krwi oraz  $\beta$ -NAD, niektóre wymagające szczepy nie wyrosną na tym podłożu.
- Wykrycie oporności pneumokoków na  $\beta$ -laktamy zwalidowano na tym podłożu jedynie dla krążka z oksacyliną.
- Dla szczepu *S. pneumoniae* ATCC® 49619™ strefy zahamowania wykraczające poza wartości rekomendowane przez EUCAST mogą być obserwowane dla następujących antybiotyków: oksacylina, tetracyklina, chloramfenikol, linezolid, trimetoprim-sulfametoksazol, rifampicyna. Oczekiwane strefy zahamowania dla tych antybiotyków podano w Tabeli 3.
- Dla szczepów *C. jejuni* ATCC® 33560™ oraz ciprofloksacyny mogą być obserwowane strefy zahamowania wykraczające poza wartości rekomendowane przez EUCAST (patrz Tabela 3).
- Dla szczepów *H. influenzae* oraz karbapenemów w strefie zahamowania może być obserwowany wzrost, ale nie powinien być brany pod uwagę.
- Niektóre szczepy paciorkowców (w tym *S. pneumoniae*) i *H. influenzae* odporne na trimetoprim-sulfametoksazol mogą dawać wynik jako wrażliwe lub średniowrażliwe niezależnie od zastosowanej metody (metoda dyfuzyjno-krążkowa lub testy gradientu MIC).

## Wiarygodność

Ocenę prowadzono zgodnie z protokołem opisanym w procedurach i zaleceniach EUCAST.<sup>1</sup>

#### Badanie lekowrażliwości prowadzone na szczepach kontrolnych:

Trzy szczepy kontrolne (*S. pneumoniae* ATCC® 49619™, *H. influenzae* ATCC® 49766™ oraz *C. jejuni* ATCC® 33560™) badano przy użyciu różnych antybiotyków zgodnie z protokołem zalecanym przez EUCAST.

Podłoże MHF zwalidowano, używając antybiotyków podanych w tabelach 2 i 3.

**Tabela 2: Zwalidowane antybiotyki ze strefami zahamowania odpowiadającymi strefom podanym przez EUCAST:<sup>3</sup>**

Grupa antybiotyków	Antybiotyk	Zawartość antybiotyku w w krążku ( $\mu$ g)	<i>S. pneumoniae</i> ATCC® 49619™	<i>H. influenzae</i> ATCC® 49766™	<i>C. jejuni</i> ATCC® 33560™
Penicyliny	Amoksycylina / kwas klawulanowy	3	–	X	–
	Ampicylina	2	–	X	–
	Benzylopenicylina	1U	–	X	–

Grupa antybiotyków	Antybiotyk	Zawartość antybiotyków w w krążku (μg)	<i>S. pneumoniae</i> ATCC® 49619™	<i>H. influenzae</i> ATCC® 49766™	<i>C. jejuni</i> ATCC® 33560™
Cefalosporyny	Cefepim	30	–	X	–
	Cefiksym	5	–	X	–
	Cefotaksym	5	–	X	–
	Cefpodoksym	10	–	X	–
	Ceftibuten	30	–	X	–
	Ceftriakson	30	–	X	–
	Cefuroksym	30	–	X	–
Karbapenemy	Doripenem	10	–	X	–
	Ertapenem	10	–	X	–
	Imipenem	10	–	X	–
Makrolidy i antybiotyki pokrewne	Klindamycyna	2	X	–	–
	Erytromycyna	15	X	X	X
	Telitromycyna	15	X	X	–
Chinolony	Ciprofloksacyna	5	X	X	–
	Lewofloksacyna	5	X	X	–
	Moksyfloksacyna	5	X	X	–
	Norfloksacyna	10	X	–	–
	Kwas nalidyksowy	30	–	X	–
	Ofloksacyna	5	X	X	–
Tetracykliny	Minocyklina	30	X	X	–
	Tetracyklina	30	–	X	X
	Tigecyklina	15	X	–	–
Glikopeptydy	Teikoplanina	30	X	–	–
	Wankomycyna	5	X	–	–
Inne antybiotyki	Chloramfenikol	30	–	X	–
	Rifampicyna	5	–	X	–

**Tabela 3: Zwalidowane antybiotyki ze strefami zahamowania innymi niż podane przez EUCAST:<sup>3</sup>**

Grupa antybiotyków	Antybiotyk	Zawartość antybiotyków w krążku (μg)	<i>S. pneumoniae</i> ATCC® 49619™	<i>C. jejuni</i> ATCC® 33560™
Penicyliny	Oksacylina	1	8–16	–
Chinolony	Ciprofloksacyna	5	–	32–40
Tetracykliny	Tetracyklina	30	28–37	–
Inne antybiotyki	Chloramfenikol	30	24–32	–
	Linezolid	10	23–30	–
	Rifampicyna	5	25–32	–

**Badanie lekowrażliwości przeprowadzono na opisanych szczepach:**Pierwsza ocena:<sup>2</sup>

39 szczepów, w tym 12 *H. influenzae*, 12 *S. pneumoniae*, 4 paciorkowce grupy A, 3 paciorkowce grupy B, 1 *Streptococcus mitis*, 3 *Streptococcus oralis*, 4 *Moraxella* i 20 antybiotyków badano na podłożu MHF. Badanie przeprowadzono w 312 kombinacjach.

Oczekiwane wyniki badania lekowrażliwości dla kategorii wrażliwy (S), średniowrażliwy (I) oraz oporny (R) są zgodne z tymi, jakie otrzymano przy użyciu 2 innych podłoży MHF (98,8% zgodności dla kategorii). Badanie pozwoliło na

sprawdzenie, że główne mechanizmy oporności mikroorganizmów spotykane u tych gatunków są wykrywane na podłożu MHF.

#### Druga ocena:<sup>2</sup>

To badanie przeprowadzono, biorąc pod uwagę nowe gatunki wskazane w zaleceniu EUCAST. 45 szczepów, w tym 5 *C. jejuni*, 5 *Campylobacter coli*, 10 *Pasteurella multocida*, 10 *Listeria monocytogenes*, 15 *Corynebacterium* spp. i 15 antybiotyków badano na podłożu MHF. Badanie przeprowadzono w 275 kombinacjach. Strefy zahamowania porównano z rozmieszczeniem typów dzikich zgodnie z EUCAST.

#### Antybiotyki i zwalidowane szczepy bakteryjne

Badane antybiotyki i ich zawartość w krążku	<i>H. influenzae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	Grupa A i B Streptococcus	Inne paciorkowce	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. multocida</i>	<i>Corynebacterium</i> spp
Amoksycylina-kwas klawulanowy 3 µg	X*	–	–	–	–	–	–	–	X	–
Ampicylina 2 µg	X	–	–	X	–	–	–	X	X	–
Benzylopenicylina (Penicylina G) 1 U	X*	–	X	X	–	–	–	X	X	X
Oksacylina 1 µg	–	X	–	–	–	–	–	–	–	–
Cefepim 30 µg	X*	–	–	X	–	–	–	–	–	–
Cefiksym 5 µg	X*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Cefotaksym 5 µg	X*	–	–	X	–	–	–	–	X	–
Cefpodoxym 10 µg	X	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ceftibuten 30 µg	X*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ceftriaksone 30 µg	X*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Cefuroksym 30 µg	X	–	–	X	–	–	–	–	–	–
Doripenem 10 µg	X*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ertapenem 10 µg	X*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Imipenem 10 µg	X*	–	–	X**	–	–	–	–	–	–
Klindamycyna 2 µg	–	X	X	X	–	–	–	–	–	X
Erytromycyna 15 µg	X*	X	X	–	X	X	X	X	–	–
Telitromycyna 15 µg	X*	X*	–	–	–	–	–	–	–	–
Ciprofloksacyna 5 µg	X*	X*	–	–	–	X	X	–	X	X
Lewofloksacyna 5 µg	X*	X*	–	–	–	–	–	–	X	–
Moksyflokscyna 5 µg	X	X	X	–	–	–	–	–	–	X
Norfloksacyna 10 µg	–	X	X	–	–	–	–	–	–	–
Kwas nalidyksowy 30 µg	X	–	–	–	–	–	–	–	X	–
Ofloksacyna 5 µg	X*	X*	–	–	–	–	–	–	–	–
Gentamycyna 10 µg	–	–	–	–	–	–	–	–	–	X***
Minocyklina 30 µg	X*	X*	–	–	–	–	–	–	–	–
Tetracyklina 30 µg	X	X	X	–	X	X	X	–	X	X
Tigecyklina 15 µg	–	X*	–	–	–	–	–	–	–	–
Teikoplanina 30 µg	–	X*	–	–	–	–	–	–	–	–
Wankomycyna 5 µg	–	X*	–	–	–	–	–	–	–	X

Badane antybiotyki i ich zawartość w krążku	<i>H. influenzae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	Grupa A i B Streptococcus	Inne paciorkowce	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. multocida</i>	<i>Corynebacterium</i> spp
Chloramfenikol 30 µg	X	X	–	–	–	–	–	–	–	–
Linezolid 10 µg	–	X*	–	–	–	–	–	–	–	X
Rifampicyna 5 µg	X	X	X	–	–	–	–	–	–	X

\*Dane uzyskane dla szczepów kontrolnych *H. influenzae* i *S. pneumoniae*.

\*\*Brak specyficznych punktów załamania dla karbapenemów opisanych w tabelach punktów załamania EUCAST<sup>2</sup>. Zgodnie z uwagą EUCAST stwierdzającą, że 1 jednostka benzylopenicyliny może posłużyć do badań przesiewowych lekooporności na antybiotyki beta-laktamowe paciorkowców z grupy zieleniejących.

\*\*\*Antybiotyk zalecany przez EUCAST bez powiązanego z nim szczepu kontrolnego.

## 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 9.0, January 2021 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
2. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. - Version 11.0, January 2021 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
3. EUCAST Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. - Version 11.0, 2021 ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
4. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. - Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests. - *J Clin Microbiol*, Nov. 1983;18(5):1269-71.
5. Statement - NA - 43901 - 43904 - 43919 - Certificate of compatibility.pdf. <http://www.biomerieux.com/techlib>. NOTE: not available in the US.

## Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>In Vitro</i>
	Wytwórca
	Przestrzegać zakresu temperatury

Symbol	Znaczenie
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji użycia.
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Data produkcji
	Nie używać повторно

## 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

Do jednorazowego użytku. Nie używać повторно.

REF	Jednostki/Opakowanie	Rozmiar płytki	Nazwa skrócona (wydrukowano na każdej płytce)
43901	płytki 2×10	90 mm	MHF
43919	płytki 10×10	90 mm	
43904	płytki 4×5	120 x 120 mm	

## 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
2016/06	16236D	Administracyjna	Tabela symboli / Historia zmian
		Zmiana techniczna	Wyjaśnienie i zasada / Ograniczenia metody / Wiarygodność

Data wydania	Numer partii	Typ zmiany	Podsumowanie zmiany
2016/08	16236E	Zmiana techniczna	Ograniczenia metody
2017-08	043258-04	Zmiana techniczna	Zastosowanie / Kontrola jakości / Ograniczenia metody / Wiarygodność / Literatura
2021-07	043258-05	Zmiana techniczna	Skład podłoża / Kontrola jakości / Literatura / Tabela symboli / Opakowanie

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

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

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

Jakiegolwiek inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.