BD Mueller Hinton II Agar
BD Mueller Hinton II Agar 150 mm
BD Mueller Hinton II Agar, Square

UTILIZARE SPECIFICĂ

BD Mueller Hinton II Agar, disponibil în plăci de diferite forme, este utilizat în procedura standardizată de difuziune cu disc pentru determinarea sensibilității izolatelor clinice de organisme aerobe cu creștere rapidă față de agenți antimicrobieni, conform standardizării realizate de Clinical and Laboratory Standards Institute (Institutul pentru Standarde Clinice și de Laborator, CLSI) și de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Comisia Europeană pentru Testarea Sensibilității Antimicrobiene, EUCAST).[1,2]

PRINCIPIILE ȘI EXPLICAREA PROCEDURII

Metodă microbiologică.

Deoarece, la începutul anilor 1960, laboratoarele de microbiologie clinică utilizau o gamă largă și variată de proceduri pentru a determina sensibilitatea bacteriilor față de antibiotice și agenți chimioterapici, Bauer, Kirby și alții au realizat o procedură standardizată în care mediul ales pentru test a fost agarul Mueller Hinton, un mediu conceput inițial pentru izolarea gonococilor.[1-5] Un studiu internațional în colaborare realizat ulterior a confirmat valoarea agarului Mueller Hinton în acest scop, datorită reproductibilității relativ bune a mediului, formulei sale simpliste și numărului mare de date experimentale acumulate utilizând acest mediu.[6]

CLSI și EUCAST au emis standarde de performanță pentru procedura Bauer-Kirby, documente ce ar trebui consultate pentru informații suplimentare.[7,8] Au fost concepute și alte standarde naționale pentru testarea sensibilității la agenți antimicrobieni conform procedurii Bauer-Kirby. În acele standarde, densitatea inoculului, metoda de inoculare, dimensiunile zonelor rezultante și modul de interpretare pot fi diferite de recomandările CLSI și EUCAST.

Procedura Bauer-Kirby se bazează pe difuziunea în gel de agar a substanțelor antimicrobiene impregnate pe discuri de hârtie.[9] Spre deosebire de primele metode, care utilizau discuri cu agenți antimicrobieni în concentrații mari și mici și care utilizau pentru interpretare prezența sau absența zonelor de inhibiție, această metodă utilizează discuri cu o singură concentrație a agentului antimicrobian, iar diametrele zonelor sunt corelate cu concentrațiile minime inhibitorii (minimum inhibitory concentrations, MIC).[1-3,7-9]

În procedura de testare, o suspensie standardizată a organismului este tamponată pe întreaga suprafață a mediului. Discurile de hârtie sunt impregnate cu cantități specifice de antibiotic sau alți agenți antimicrobieni și apoi sunt plasate pe suprafața mediului, placa se incubează, iar zonele de inhibiție din jurul fiecărui disc sunt măsurate. Prin compararea dimensiunilor zonelor obținute cu cele din tabelele de la 2A până la 2D din documentul CLSI M100 (M2), se stabilește dacă un organism este sensibil (S), intermediar (I) sau rezistent (R) la un agent.[10] Prin compararea dimensiunilor zonelor obținute cu cele enumerate în tabelele EUCAST cu punctele limită, se stabilește dacă un organism este sensibil (S) sau rezistent (R) la un agent.[11] Au fost identificați numeroși factori care influențează testele de sensibilitate prin difuziune cu disc. Printre aceștia se numără mediul, umezeala în exces pe suprafața mediului, adâncimea agarului, potența discului, concentrația inoculului, pH-ul și producerea de ß-lactamază de către organismele testate.[6-9,12]

BD Mueller Hinton II Agar este produs cu un conținut scăzut de timină și timidină și are niveluri controlate de calciu și magneziu.[15-17] Concentrațiile de timină și timidină ale materiilor prime sunt determinate utilizând procedura de difuziune cu discuri cu trimetoprim-sulfametoxazol (SXT) și *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212. Concentrațiile de calciu și magneziu sunt controlate prin testarea materiilor prime și suplimentarea cu surse de calciu și/sau magneziu, conform necesităților, pentru a realiza diametre corecte ale zonelor cu antibiotice aminoglicozidice și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
Adâncimea agarului pentru fiecare formă de placă cu **BD Mueller Hinton II Agar** a fost adaptată astfel încât să corespundă atât recomandărilor CLSI, cât și recomandărilor EUCAST.[7,8]

REACTIVI

BD Mueller Hinton II Agar

Formulă* pentru un litru de apă purificată

Extract de vită	2,0 g
Hidrolizat acid de cazeină	17,5
Amidon	1,5
Agar	17,0

pH 7,3 +/- 0,2

*Ajustată și/sau suplimentată după cum este necesar, pentru a îndeplini criteriile de performanță.

PRECAUȚII

IVD . Numai pentru uz profesional. ②

Nu utilizați plăcile dacă prezintă semne de contaminare microbiană, decolorare, deshidratare, fisuri sau alte semne de deteriorare. Contracția excesivă a mediului datorită deshidratării poate duce la rezultate de sensibilitate false.

Consultați documentul **INSTRUCȚIUNI GENERALE DE UTILIZARE** pentru detalii referitoare la procedurile de manipulare aseptică, riscurile biologice și eliminarea produselor utilizate.

DEPOZITAREA ȘI DURATA DE DEPOZITARE

La recepție, depozitați plăcile la întuneric la 2 până la 8 °C, în ambalajul original, până în momentul utilizării. Evitați congelarea și supraîncălzirea. Plăcile pot fi inoculate până la expirarea termenului de valabilitate (consultați eticheta ambalajului) și pot fi incubate pentru perioadele recomandate de incubație.

Plăcile dintr-o stivă de 10 plăci desfăcută pot fi utilizate timp de o săptămână, dacă sunt depozitate într-o zonă curată, la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.

CONTROLUL CALITĂȚII EFECTUAT DE UTILIZATOR

Pentru controlul calității efectuat de utilizator trebuie consultate standardele CLSI[10] și EUCAST[18] adecvate sau, dacă este cazul, standardele naționale. Inoculați probele reprezentative cu următoarele tulpini pe fiecare mediu (pentru informații suplimentare, consultați **Tipuri de probe** și **Procedura de testare**). Incubați plăcile, de preferință într-o poziție răsturnată, în conformitate cu temperatura, timpul și condițiile atmosferice indicate mai jos. Plăcile cu **Mueller Hinton II Agar** și discurile cu agenți antimicrobieni trebuie testate cel puțin de două ori pe săptămână pentru o performanță corespunzătoare.

Tabelul 1: Rezultate estimate pentru intervalele de diametre ale zonei de inhibiție pentru tulpinile destinate controlului de calitate, conform CLSI[19] și EUCAST[20]

Tulpină	Agent antimicrobian	Interval (mm)	Incubarea
Escherichia coli ATCC 25922[1]	Ampicilină (10 µg)	15-22	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Imipenem (10 µg)	26-32	
	Gentamicină (10 µg)	19-26	
	Amikacină (30 µg)	19-26	
	Ciprofloxacină (5 µg)	30-40	
	Trimetoprim-sulfametoxazol SXT (1,25 µg – 23,75 µg)	23-29	
Escherichia coli ATCC 35218[1]	Amoxicilină/acid clavulanic (30 µg)	17-22	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Ampicilină/sulbactam (30 µg)	13-19	
Enterococcus faecalis ATCC 29212[2]	Trimetoprim-sulfametoxazol (1,25 µg – 23,75 µg)	26-34	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Ciprofloxacină (5 µg)	19-25	
Staphylococcus aureus ATCC 25923[3]	Tetraciclină (30 µg)	24-30	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Gentamicină (10 µg)	19-27	
	Eritromicină (15 µg)	22-30	
	Clindamicină (2 µg)	24-30	
Staphylococcus aureus ATCC 29213[2]	Tetraciclină (30 µg)	23-31	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Gentamicină (10 µg)	19-25	
	Eritromicină (15 µg)	23-29	
	Clindamicină (2 µg)	23-29	
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853[1]	Aztreonam (30 µg)	23-29	CLSI: 16 – 18 h, 35±2 °C EUCAST: 16 – 20 h, 35±1 °C
	Amikacină (30 µg)	18-26	
	Gentamicină (10 µg)	17-23	
	Imipenem (10 µg)	20-28	
Neinoculat	Incolor spre culoarea chihlimbarului deschisă		

[1]: Rezultate pentru tulpinile destinate controlului de calitate, conform CLSI și EUCAST
[2]: Rezultate pentru tulpinile destinate controlului de calitate, conform EUCAST
[3]: Rezultate pentru tulpinile destinate controlului de calitate, conform CLSI

PROCEDURA

Materiale furnizate

BD Mueller Hinton II Agar (furnizat în plăci de diferite forme; consultați **Ambalaj/ disponibilitate**). Controlat microbiologic.

Materiale nefurnizate

1. Conform CLSI: Bulion pentru inocul în flacon, precum **BD Trypticase™ Soy Broth** (bulion cu extract de cazeină din soia) sau Mueller Hinton II Broth (cation-ajustat), pentru prepararea inoculului standard și bulion steril sau soluție salină pentru diluarea inoculului.[7]
   Conform EUCAST: 0,9% soluție salină (cantități de 5 mL) pentru prepararea inoculului standard.[8]
2. Un standard de comparație de sulfat de bariu (0,5 mL de 0,048 M $BaCl_2$ [1,175% g/v $BaCl_2 \cdot 2H_2O$] până la 99,5 mL de 0,18 M [0,36 N] H_2SO_4 [1% v/v]) sau
3. Un dispozitiv fotometric pentru ajustarea turbidității suspensiei de inocul la un standard echivalent cu 0,5 McFarland.
4. Ca alternativă la materialele de mai sus (1 – 3), poate fi utilizat **BD Prompt™ Inoculation System** (dispozitiv de preparare volumetrică a inoculului).[7,8,25]
5. Culturi de control conform CLSI: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 și ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 și *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.[10]
   Culturi de control conform EUCAST: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 și ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 și ATCC 51299, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, și *Staphylococcus aureus* NCTC 12493.[18]
6. Discuri de hârtie impregnate cu agenți antimicrobieni în cantități specifice,[7,8] cum ar fi discurile pentru testarea sensibilității **BD Sensi-Disc™**.
7. Dispozitiv pentru distribuirea discurilor, precum dispenser cu 6, 8 sau 12 poziții **BD Sensi-Disc**. De asemenea, este disponibil un dispenser adecvat pentru plăcile de Mueller Hinton II Agar Square.
8. Riglă sau alt dispozitiv pentru măsurarea în milimetri a dimensiunii zonelor.
9. Medii de cultură auxiliare, reactivi și echipamentul de laborator necesar.

Tipuri de probe

Acest produs este utilizat numai pentru testarea sensibilității culturilor pure care au fost izolate din probe clinice (consultați și **CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII**). Au fost propuse testări directe ale sensibilității antimicrobiene realizate pe hemoculturi și uroculturi; totuși, testele trebuie repetate și confirmate din culturi pure.[21-24]

Procedura de testare

Această metodologie descrie metoda suspensiei directe din colonii, așa cum este recomandată de CLSI[7] și EUCAST[8]:

1. Asigurați-vă că este disponibilă o cultură pură, proaspătă (=de peste noapte) de pe mediu neselectiv, precum agar cu sânge.
   Conform CLSI: Pentru testele de sensibilitate de rutină, inoculul poate fi preparat prin realizarea unei suspensii directe cu soluție salină sau bulion din mai multe colonii.
   Conform EUCAST: Pentru testele de sensibilitate de rutină, inoculul poate fi preparat prin realizarea unei soluții saline directe din mai multe colonii similare din punct de vedere morfologic.
2. Ajustați imediat această suspensie la turbiditatea standardelor de sulfat de bariu 0,5 McFarland, fără incubare. Turbiditatea standardului și a inoculului de testat trebuie comparate prin așezarea ambelor flacoane în fața unui fundal alb cu linii negre fine sau poate fi utilizat un dispozitiv fotometric.
3. S-a constatat că metodele alternative de preparare a inoculului prin dispozitive care permit standardizarea directă a inoculului fără ajustarea turbidității, precum **BD Prompt Inoculation System**, sunt acceptabile în scopul testării de rutină.[25]
4. Utilizați inoculul, în mod optim, în decursul a 15 min. de la ajustarea turbidității. Suspensia trebuie să fie folosită întotdeauna în decursul a 60 min. de la pregătire. Scufundați un tampon steril în inoculul diluat corespunzător și învârtiți cu fermitate de mai multe ori pe interiorul porțiunii superioare a peretelui flaconului pentru a înlătura lichidul în exces și a evita inocularea excesivă.

5. Inoculați prin însămânțarea de trei ori a întregii suprafețe de agar a plăcii, răsucind placa cu 60° între însămânțări pentru a obține o inoculare uniformă.
6. Conform CLSI: Capacul poate fi lăsat întredeschis timp de 3 până la 5 min, iar placa ținută la temperatura camerei nu mai mult de 15 min, pentru a permite absorbția eventualei umezeli de la suprafață înainte de aplicarea discurilor impregnate cu medicament. Aplicați discurile cu ajutorul unui dispenser de discuri antimicrobiene, luând precauții de asepsie. Așezați discurile astfel încât centrele lor să fie la o distanță de cel puțin 24 mm unul de celălalt.
   Conform EUCAST: Aplicați discurile pe placa uscată în 15 min. de la inoculare, luând precauții de asepsie. Așezați maximum șase discuri pe placă.
7. După așezarea discurilor pe agar, presați-le cu un ac steril sau pensă sterilă pentru a realiza contactul complet cu suprafața mediului. Acest pas nu este necesar dacă discurile sunt așezate cu ajutorul dispenserelor auto-aplicatoare **BD Sensi-Disc**.
8. În termen de 15 minute de la aplicarea discurilor, răsturnați plăcile și așezați-le în incubator. Plăcile nu trebuie incubate în atmosferă cu concentrație crescută de dioxid de carbon. Pentru condițiile recomandate de incubare, consultați CLSI și EUCAST.[7,8,10,11]

Citirea rezultatelor

1. După inoculare, trebuie observată o creștere în „luminișuri” confluente. Dacă au crescut numai colonii izolate, inoculul a fost prea slab și trebuie repetat testul.
2. Conform CLSI: Determinați diametrul zonelor de inhibiție completă (apreciate cu ochiul liber), incluzând diametrul discului, până la primul milimetru întreg, utilizând un compas reglabil, o riglă sau un șablon preparat în acest scop. Dispozitivul de măsurare este ținut pe fundul plăcii inversate pe un fundal negru, nereflectant și iluminat de deasupra.[7]
   Conform EUCAST: Determinați diametrul zonelor de inhibiție completă (apreciate cu ochiul liber), incluzând diametrul discului, până la primul milimetru întreg, utilizând un compas reglabil sau o riglă. Dispozitivul de măsurare este ținut pe fundul plăcii inversate pe un fundal negru, iluminat de deasupra cu lumină reflectată. Placa se ține la circa 30 cm de ochi.[8]
3. Ca limită trebuie considerată suprafața pe care nu este vizibilă o creștere evidentă, observată cu ochiul liber. Neglijați o creștere estompată de colonii foarte mici, care poate fi observată cu dificultate aproape de marginea zonei de inhibiție evidentă.
4. Conform CLSI: *Staphylococcus aureus* testat cu discurile de oxacilină reprezintă o excepție, precum și enterococii testați cu vancomicină. În aceste cazuri, trebuie să se utilizeze lumina transmisă pentru a detecta o opacitate de creștere în jurul discului, realizată de tulpini „rezistente oculte” de SAMR sau enterococi vancomicino-rezistenți.[7,26] În cazul speciilor de *Proteus*, dacă zona de inhibiție este distinctă suficient pentru a fi măsurată, neglijați orice invazie în interiorul zonei. Cu trimetoprim și sulfonamide, antagoniștii din mediu pot permite o creștere ușoară; de aceea, neglijați creșterea ușoară (20% sau mai puțin din luminișul de creștere) și măsurați marginile evidente pentru a determina diametrul zonei.
   Conform EUCAST: În cazul zonelor duble, trebuie să fie măsurată zona interioară, dacă nu se specifică altfel.[8]

Calcularea și interpretarea rezultatelor

Conform CLSI:
Diametrele zonelor determinate în jurul discurilor trebuie comparate cu cele din tabelele de la 2A până la 2D din documentul CLSI M100 (M2).[10] Rezultatele obținute pentru organismele specifice pot fi, apoi, raportate ca rezistente, intermediare sau sensibile.
Conform EUCAST:
Interpretați diametrele zonelor prin referință la tabelele cu punctele limită.[11] Rezultatele obținute pentru organismele specifice pot fi, apoi, raportate ca rezistente sau sensibile. Pentru informații suplimentare despre caracteristicile specifice de creștere, interpretare și alte documente orientative, consultați EUCAST.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ ȘI LIMITĂRILE PROCEDURII

Agarul Mueller Hinton este mediul standard utilizat pentru testarea sensibilității bacteriilor aerobe sau facultativ anaerobe cu creștere rapidă, precum stafilococi, enterococi, membrii familiei *Enterobacteriaceae* și bacili aerobi gram-negativi (de ex. speciile de *Pseudomonas*). Documentele orientative pentru interpretarea sensibilității sunt actualizate anual și trebuie consultată versiunea cea mai recentă pentru o interpretare adecvată a rezultatelor obținute.[10,11] Pentru testarea speciilor pretențioase, de ex. speciile *Haemophilus, speciile Neisseria* și *Streptococcus pneumoniae* precum și streptococii au fost concepute proceduri diferite, alte medii și condiții.

Procedura standardizată CLSI și EUCAST nu poate fi utilizată pentru testarea organismelor strict anaerobe, organismelor cu rată de creștere slabă sau lentă pe agarul Mueller Hinton sau organismelor care prezintă variații la fiecare tulpină cu privire la rata de creștere.[7,8] Organismele pretențioase (de ex. *Haemophilus influenzae*) trebuie testate conform recomandărilor CLSI și EUCAST.[7,8]

Evaluarea internă a performanței

Performanța **BD Mueller Hinton II Agar** (toate formele de plăci) a fost validată intern, folosind tulpinile recomandate pentru controlul calității (CC), inclusiv cele cu mecanisme de rezistență caracterizate (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumonia*e ATCC 700603, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Staphylococcus aureus* NCTC 12493, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 cu amoxicilină-acid clavulanic AMC-3).[19,20,34]
Tabelul 2 rezumă agenții antimicrobieni validați pentru tulpinile CC și tulpinile cu mecanisme de rezistență caracterizate. Dacă nu se specifică altfel, dimensiunile zonelor de inhibiție determinate pentru agenții antimicrobieni validați s-au situat în intervalele pentru diametrele zonei de inhibiție specificate de CLSI și EUCAST.[19,20]
Studii suplimentare de performanță cu izolate clinice de SAMR prezentând tipul de rezistență *mecC* au indicat că **BD Mueller Hinton II Agar** detectează cu precizie tulpinile SAMR *mecC*-pozitive.[34,35]

Tabelul 2: Prezentare generală a agenților antimicrobieni validați și a tulpinilor pentru controlul calității. Dacă nu se specifică altfel, diametrele zonei de inhibiție s-au situat în intervalele respective CLSI și/sau EUCAST.[19,20]

Agent antimicrobian	**Conținutului discului (µg)**	***E. coli* ATCC 25922**[10,18]	***P. aeruginosa* ATCC 27853**[10,18]	***E. faecalis* ATCC 29212**[10,18]	***S. aureus* ATCC 29213**[18]	***E. coli* ATCC 35218**[10,18]	***S. aureus* NCTC 12493**[18]	***K. pneumoniae* ATCC 700603**[10,18]	***E. faecalis* ATCC 51299**[18]
Amikacină	AN-30	✓	✓		✓				
Amoxicilină-acid clavulanic	AMC-3				✓				
	AMC-30	✓				[5]			
Ampicilină	AM-2			[3]	✓				
	AM-10	✓							
Ampicilină-sulbactam	SAM-20	✓				✓			
Aztreonam	ATM-30	✓	✓					✓	
Benzilpenicilină	P-1				✓				
Cefadroxil	CFR-30	✓[1]							
Cefalexină	CN-30	✓[1]							
Cefepime	FEP-30	✓	✓						
Cefiximă	CFM-5	✓							
Cefotaxim	CTX-5	✓[2]						✓[2]	
Cefoxitină	FOX-30	✓			✓		✓		
Cefpodoximă	CPD-10	✓						✓	
Ceftarolină	CPT-5	✓[2]			✓				
Ceftazidimă	CAZ-10	✓[2]	✓[2]					✓[2]	
Ceftibuten	CFT-30	✓							
Ceftriaxonă	CRO-30	✓						✓	
Cefuroxim	CXM-30	✓							
Cloramfenicol	C-30	✓			✓				
Ciprofloxacin	CIP-5	✓	✓	✓	✓				
Clindamicin	CC-2				✓				
Doripenem	DOR-10	✓	✓						
Ertapenem	ETP-10	✓							
Eritromicină	E-15				✓				
Acid fusidic	FA-10				✓				
Gentamicină	GM-10	✓	✓		✓				
	GM-30			✓					✓
Imipenem	IPM-10	✓	✓	✓					
Levofloxacin	LVX-5	✓	✓	✓	✓				
Linezolid	LZD-10			✓	✓				
Mecilinam	MEC-10	✓							
Meropenem	MEM-10	✓	✓						
Minociclină	MI-30				✓				
Moxifloxacină	MXF-5	✓			✓				
Mupirocin	MUP-200				✓				
Acid nalidixic	NA-30	✓							

Tabelul 2: Continuare.

Agent antimicrobian	Conținutului discului (µg)	*E. coli* ATCC 25922[10,18]	*P. aeruginosa* ATCC 27853[10,18]	*E. faecalis* ATCC 29212[10,18]	*S. aureus* ATCC 29213[18]	*E. coli* ATCC 35218[10,18]	*S. aureus* NCTC 12493[18]	*K. pneumoniae* ATCC 700603[10,18]	*E. faecalis* ATCC 51299[18]
Netilmicină	NET-10	✓[2]	✓[2]		✓				
Nitrofurantoin	FM-100	✓[2]		✓	✓				
Norfloxacină	NOR-10	✓		✓	✓				
Ofloxacină	OFX-5	✓			✓				
Pefloxacină	PEF-5	✓							
Piperacilină	PIP-30	✓[2]							
Piperacilină-tazobactam	PIP-30/TAZ-6	✓[2]	✓[2]			✓[2]			
Quinupristin-dalfopristin	SYN-15			✓	✓				
Rifampicină	RA-5				✓				
Streptomicină	S-300			[6]					
Teicoplanin	TEC-30			✓					✓
Tetraciclină	TE-30				✓				
Ticarcilină	TIC-75	✓							
Ticarcilină-acid clavulanic	TIM-85	✓	✓			✓			
Tigeciclină	TGC-15	✓		✓	✓				
Tobramicină	NN-10	✓	✓		✓				
Trimetoprim	TMP-5	✓		✓	[4]				
Trimetoprim-sulfametoxazol	SXT1,25-23,75	✓		✓	✓				
Vancomicină	VA-5			✓					✓

✓ Zonele de inhibiție indicate se situează în intervalul specificat de EUCAST și CLSI.
[1] CLSI nu recomandă testarea agentului antimicrobian.
[2] CLSI și EUCAST recomandă concentrații diferite din agentul antimicrobian. Au fost urmate recomandările EUCAST.
[3] Zona de inhibiție a agentului antimicrobian nu se situează în intervalul recomandat de EUCAST (Mueller Hinton II Agar, 150 mm, pătrat).
[4] Zona de inhibiție a agentului antimicrobian nu se situează în intervalul recomandat de EUCAST (Mueller Hinton II Agar, 90 mm).
[5] Zona de inhibiție a agentului antimicrobian nu se situează în intervalul recomandat de EUCAST și CLSI (Mueller Hinton II Agar, 90 mm).
[6] Zona de inhibiție a agentului antimicrobian nu se situează în intervalul recomandat de CLSI (Mueller Hinton II Agar, 90 și 150 mm), dar se situează în intervalul recomandat de EUCAST.

Limitările procedurii

Testul de sensibilitate prin difuziunea discurilor este destinat numai pentru utilizare cu culturi pure. Înainte de a pregăti un test de sensibilitate este recomandată realizarea unei colorații gram și identificarea prezumtivă a izolatului.
Este posibil ca, în cazul unor combinații organism-agent antimicrobian, zona de inhibiție să nu prezinte o margine delimitată clar, ceea ce poate duce la interpretări incorecte.
Au fost identificați numeroși factori care influențează testul de sensibilitate prin difuziune cu disc. Printre aceștia se numără mediul, adâncimea agarului, potența discului, concentrația inoculului, vechimea inoculului și pH-ul.[31]

O concentrație inadecvată a inoculului poate duce la rezultate incorecte. Zonele de inhibiție pot fi prea mici dacă inoculul este prea încărcat și pot fi prea mari și dificil de determinat dacă inoculul este prea slab. Prin urmare, se recomandă insistent să se urmeze recomandările CLSI și EUCAST cu privire la manipularea inoculului și a plăcilor inoculate, pentru minimizarea riscului potențial de rezultate incorecte din cauza manipulării necorespunzătoare. Depozitarea inadecvată a discurilor cu agenți antimicrobieni poate cauza pierderea potenței și un rezultat fals sensibil. Contracția excesivă a mediului datorită depozitării inadecvate poate duce la rezultate de sensibilitate false.
Sensibilitatea in vitro a unui organism față de un agent antimicrobian specific nu înseamnă neapărat că acel agent va fi eficient in vivo. Pentru indicații privind interpretarea rezultatelor, consultați referințele corespunzătoare.[10,11,32,33]
Pot fi întâlnite bacterii ce necesită timină sau timidină.[27,28] Aceste organisme pot să nu crească în mod satisfăcător pe agarul Mueller Hinton care conține concentrații scăzute de timină sau timidină.
Au fost realizate proceduri noi pe bază de discuri cu concentrații mari de gentamicină (120 mg) și streptomicină (300 mg) pentru screening-ul rezistenței de nivel înalt la aminoglicozide, ca indicator al faptului că un izolat enterococ nu va fi afectat în mod sinergic de o combinație de penicilină sau glicopeptid și un aminoglicozid.[7,28,29]
Pentru informații complete referitoare la detectarea SAMR, a enterococilor rezistenți, a bacililor gram-negativi producători de ß-lactamază din spectrul lărgit și alte limitări ale testului, consultați documentele CLSI M2 și M7 și EUCAST.[7,8,10,11,30]
S-a demonstrat că mediul Mueller Hinton II Agar este fiabil în vederea detectării SAMR care produc o zonă voalată de inhibiție în jurul discurilor cu oxacilină.[26] Când există dubii, trebuie utilizată o metodă suplimentară, precum **BD Oxacillin Screen Agar**.
Metoda de inoculare, interpretarea, recomandările și limitele pentru dimensiunile zonelor prezentate în acest document și recomandate de standardele CLSI și EUCAST pot fi diferite de standardele naționale.[7,8,31]

REFERINȚE

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45:493-496.
2. Matuschek, E., D.F. Brown, and G. Kahlmeter. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clin. Microbiol. Infect. 2014; 20 (4): 255-66.
3. Ryan, K.J., F.D. Schoenknecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc sensitivity testing. Hospital Practice 5:91-100.
4. Barry, A.L., F. Garcia, and L.D. Thrupp. 1970. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. Am. J. Clin. Pathol. 53:149-158.
5. Mueller, J.H., and J. Hinton. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330-333.
6. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl. 217.
7. CLSI. Approved standard: M02-A12 - Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI, Wayne, PA, USA. *Search for latest version at www.clsi.org.*
8. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Search for latest version at http://www.eucast.org*.
9. Woods, G.L., and J.A. Washington. 1995. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods, p. 1327-1341. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.C. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
10. CLSI - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. *Search for latest version at www.clsi.org.*
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. *Search for latest version at http://www.eucast.org.*
12. Thornsberry, C., T.L. Gavan, and E.H. Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society of Microbiology, Washington, DC.

13. Koch, A.E., and J.J. Burchall. 1971. Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. Appl. Microbiol. 22:812-817.
14. Ferone, R., S.R.M. Bushby, J.J. Burchall, W.D. Moore, and D. Smith. 1975. Identification of Harper-Cawston factor as thymidine phosphorylase and removal from media of substances interfering with susceptibility testing to sulfonamides and diaminopyrimidines. Antimicrob. Agents Chemother. 7:91-98.
15. Reller, L.G., F.D. Schoenknecht, M.A. Kenny, and J.C. Sherris. 1974. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. J. Infect. Dis. 130:454-463.
16. Pollock, H.M., B.H. Minshew, M.A. Kenny, and F.D. Schoenknecht. 1978. Effect of different lots of Mueller-Hinton Agar on the interpretation of the gentamicin susceptibility of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother. 14:360-367.
17. D'Amato, R.F., and C. Thornsberry. 1979. Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. Current Microbiol. 2:135-138.
18. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. *Search for latest version at http://www.eucast.org*.
19. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 6.0, 2016. *http://www.eucast.org*.
20. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
21. Wegner, D.L., C.R. Mathis, and T.R. Neblett. 1976. Direct method to determine the antibiotic susceptibility of rapidly growing blood pathogens. Antimicrob. Agents Chemother. 9:861-862.
22. Johnson, J.E., and J.A. Washington II. 1976. Comparison of direct and standardized antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures. Antimicrob. Agents Chemother. 10:211-214.
23. Waterworth, P.M., and M. Del Piano. 1976. Dependability of sensitivity tests in primary culture. J. Clin. Pathol. 29:179-184.
24. Hollick, G.E., and J.A. Washington II. 1976. Comparison of direct and standardized disk diffusion susceptibility testing of urine cultures. Antimicrob. Agents Chemother. 9:804-809.
25. Baker, C.N., C. Thornsberry, and R.W. Hawkinson. 1983. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. J. Clin. Microbiol. 17:450-457.
26. Hindler, J.A., and C.B. Anderbied. 1985. Effect of the source of Mueller-Hinton agar and resistance frequency on the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 21:205-210.
27. Maskell, R., O.A. Okubadejo, R.H. Payne, and L. Pead. 1977. Human infections with thymine-requiring bacteria. J. Med. Microbiol, 11:33-45.
28. Haltiner, R.C., P.C. Migneault, and R.G. Robertson. 1980. Incidence of thymidine-dependent enterococci detected on Mueller-Hinton agar with low thymidine content. Antimicrob. Agents Chemother. 18:365-368.
29. Murray, B.E. 1990. The life and times of the *Enterococcus*. Clin. Microbiol. Rev. 3:46-65.
30. CLSI. Approved standard: M7. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. CLSI, Wayne, PA, USA.*Search for latest version at www.clsi.org*.
31. Jorgensen, J.H., and J.D. Turnidge. 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
32. Washington, J.A., and G.L. Woods. 1995. Antimicrobial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. P. 1327-1341. In Muarry, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F:C:, and Yolken, R:H. (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1995.
33. Neumann, M.A., D.F. Sahm, C. Thornsberry, J.E. McGowan, Jr. Cumitech 6A, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing: a practical guide. Coordinating ed., J.E. McGowan, Jr. American Society of Microbiology, Washington, D.C.1991.

34. Data on file. Becton Dickinson.
35. Skov, R., A.R. Larsen, A. Kearns, M. Holmes, C. Teale, G. Edwards, and R. Hill. Phenotypic detection of *mecC*-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacillin. 2014. J. Antimicrob. Chemother. 69:133-135.

AMBALAJ/DISPONIBILITATE

BD Mueller Hinton II Agar (plăci Stacker de 90 mm; [dimensiunea standard]**)**

Nr. cat. 254032	Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 plăci
Nr. cat. 254081	Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 120 plăci

BD Mueller Hinton II Agar (150 mm)

Nr. cat. 254062	Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 plăci

BD Mueller Hinton II Agar, Square (120 x 120 mm)

Nr. cat. 254518	Medii pe plăci pregătite pentru utilizare, 20 plăci

INFORMAȚII SUPLIMENTARE

Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul local BD.

Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8-12
69126 Heidelberg/Germany
Telefon: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

http://www.bd.com
http://www.bd.com/europe/regulatory/

Mărcile comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi.
© 2017 BD. BD, BD Logo și toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea Becton, Dickinson and Company.