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

## AVSEDD ANVÄNDNING

**BD Mueller Hinton II Agar**, som finns i flera olika plattformat, används i det standardiserade lappdiffusionsförfarandet för bestämning av resistens mot antimikrobiella medel hos kliniska isolat av snabbväxande aeroba organismer, i enlighet med standarderna från CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) och den europeiska kommittén för resistensbestämning (EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).[1,2]

## FÖRKLARING OCH PRINCIPER FÖR METODEN

Mikrobiologisk metod.

På grund av att mikrobiologiska laboratorier i början av 1960-talet använde flera olika procedurer vid resistensbestämning av bakterier för antibiotika och kemoterapeutiska medel, utvecklade Bauer, Kirby och andra ett standardiserat förfarande där Mueller Hinton-agar, ett medium som ursprungligen var tänkt för isolering av gonokocker, utvaldes som testmedium.[1–5] En efterföljande internationell kollaborativ studie bekräftade värdet av Mueller Hinton-agar för detta syfte på grund av mediets relativt goda reproducerbarhet, formuleringens enkelhet och den stora mängd data som ackumulerats i experiment med detta medium.[6]

CLSI och EUCAST har gett ut prestandastandarder för Bauer-Kirby-förfarandet och dessa dokument bör konsulteras för mer information.[7,8] Andra nationella standarder har utvecklats för antimikrobiell resistensbestämning i enlighet med Bauer-Kirby-förfarandet. I de standarderna kan inokulatdensiteter, inokulatmetoder, de följande zonstorlekarna och tolkningssättet skilja sig från rekommendationerna från CLSI och EUCAST.

Bauer-Kirby-förfarandet baseras på diffusion genom en agargel av antimikrobiella substanser, vilka är impregnerade på papperslappar.[9] Till skillnad från tidigare metoder, då man använde lappar med höga och låga antimikrobiella koncentrationer samt närvaro eller frånvaro av hämningszoner för tolkningen, använder man i denna metod lappar med en enda koncentration av antimikrobiellt medel och zondiametrarna korrelerar med minsta hämmande koncentration (MIC).[1–3,7–9]

En standardiserad organismsuspension stryks över mediets hela yta i detta testförfarande. Papperslappar impregnerade med specifika mängder antibiotika eller andra antimikrobiella ämnen placeras därefter på mediets yta, plattan inkuberas och hämningszonerna runt varje lapp mäts. Bestämningen av huruvida organismen är känslig för (S), intermediär (I) eller resistent mot (R) ett agens görs genom att jämföra erhållna zonstorlekar med de som anges i tabellerna 2A till 2D i CLSI-dokumentet M100 (M2).[10] Bestämningen av huruvida organismen är känslig för (S) eller resistent mot (R) ett agens görs genom att jämföra erhållna zonstorlekar med de som anges i EUCAST:s brytpunktstabeller.[11]

Olika faktorer som påverkar resistensbestämning med lappdiffusion har identifierats. Dessa inkluderar mediet, överflöd av ytfuktighet på mediet, agardjup, lappens läkemedelskoncentration, inokulatkoncentration, pH och testorganismernas ß-laktamasproduktion.[6–9,12]

**BD Mueller Hinton II Agar** tillverkas för att innehålla låga nivåer av tymin och tymidin, och kontrollerade nivåer av kalcium och magnesium.[15–17] Tymin- och tymidinnivåerna i råmaterial bestäms genom lappdiffusionsförfarandet med trimetoprim-sulfametoxazol (SXT) och *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212. Kalcium- och magnesiumnivåer kontrolleras genom testning av råmaterial, och komplettering med kalcium- och/eller magnesiumkällor behövs för att producera korrekta zondiametrar med aminoglykosidantibiotika och *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Agardjupet för varje **BD Mueller Hinton II Agar**-plattformat justerades för att uppfylla rekommendationerna från CLSI och EUCAST.[7,8]

## REAGENSER

**BD Mueller Hinton II Agar**

Sammansättning* per liter aqua purif.

| | |
|---|---|
| Nötextrakt | 2,0 g |
| Kaseinhydrolysat | 17,5 |
| Stärkelse | 1,5 |
| Agar | 17,0 |

pH 7,3 +/- 0,2

*Justeras och/eller kompletteras efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

## FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

**IVD** . Endast för professionellt bruk.

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller andra brister. Svår krympning av detta medium på grund av uttorkning kan leda till falska resistensresultat.

Se dokumentet **ALLMÄNNA INSTRUKTIONER FÖR ANVÄNDNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och avyttring av använda produkter.

## FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalförpackningen fram till dess de ska användas. Undvik överhettning och nedfrysning. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkuberingstid. Plattor från öppnade förpackningar om 10 plattor kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8 °C.

## KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

För användarkvalitetskontroll bör lämpliga nationella standarder från CLSI[10] och EUCAST[18] konsulteras. Inokulera representativa prover med följande stammar på respektive medium (se dokumentet **Provtyper** och **Testförfarande** för ytterligare information). Inkubera plattorna, helst i inverterat läge, i enlighet med nedan angivna temperatur, tid och omgivande luft. **BD Mueller Hinton II Agar**-plattorna och de antimikrobiella lapparna som används bör testas minst två gånger i veckan för korrekt prestanda.

**Tabell 1:** Förväntade resultat för diameterintervall för kvalitetskontrollstammarnas hämningszoner enligt CLSI[19] och EUCAST[20]

| Stam | Antimikrobiellt agens | Område (mm) | Inkubation |
|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* ATCC 25922[1] | Ampicillin (10 µg) | 15-22 | CLSI: 16–18 h, 35±2 °C<br>EUCAST: 16–20 h, 35±1 °C |
| | Imipenem (10 µg) | 26-32 | |
| | Gentamicin (10 µg) | 19-26 | |
| | Amikacin (30 µg) | 19-26 | |
| | Ciprofloxacin (5 µg) | 30-40 | |
| | Trimetoprim-Sulfametoxazol SXT (1,25 µg–23,75 µg) | 23-29 | |
| *Escherichia coli* ATCC 35218[1] | Amoxicillin-klavulansyra (30 µg) | 17-22 | CLSI: 16–18 h, 35±2 °C<br>EUCAST: 16–20 h, 35±1 °C |
| | Ampicillin/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<br>EUCAST: 16–20 h, 35±1 °C |
| | Ciprofloxacin (5 µg) | 19-25 | |
| *Staphylococcus aureus* ATCC 25923[3] | Tetracyklin (30 µg) | 24-30 | CLSI: 16–18 h, 35±2 °C<br>EUCAST: 16–20 h, 35±1 °C |
| | Gentamicin (10 µg) | 19-27 | |
| | Erytromycin (15 µg) | 22-30 | |
| | Klindamycin (2 µg) | 24-30 | |
| *Staphylococcus aureus* ATCC 29213[2] | Tetracyklin (30 µg) | 23-31 | CLSI: 16–18 h, 35±2 °C<br>EUCAST: 16–20 h, 35±1 °C |
| | Gentamicin (10 µg) | 19-25 | |
| | Erytromycin (15 µg) | 23-29 | |
| | Klindamycin (2 µg) | 23-29 | |
| *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853[1] | Aztreonam (30 µg) | 23-29 | CLSI: 16–18 h, 35±2 °C<br>EUCAST: 16–20 h, 35±1 °C |
| | Amikacin (30 µg) | 18-26 | |
| | Gentamicin (10 µg) | 17-23 | |
| | Imipenem (10 µg) | 20-28 | |
| Ej inokulerad | Färglöst till ljust bärnstensfärgat | | |

[1]: Resultat för kvalitetskontrollstammar enligt CLSI och EUCAST
[2]: Resultat för kvalitetskontrollstammar enligt EUCAST
[3]: Resultat för kvalitetskontrollstammar enligt CLSI

## FÖRFARANDE

### Tillhandahållet material

**BD Mueller Hinton II Agar** (tillhandahålls i flera olika plattformat, se **Förpackning/ Tillgänglighet**). Mikrobiologiskt kontrollerad.

### Material som krävs men ej medföljer

1. Enligt CLSI: Inokulationsbuljong i rör, såsom **BD Trypticase™ Soy Broth** (BD Trypticase sojabuljong) (soyabönskaseinspjälkad buljong) eller Mueller Hinton II-buljong (katjonjusterad), för beredning av ett standardinokulat och steril buljong eller koksalt för spädning av inokulat.
   Enligt EUCAST: 0,9 % koksaltlösning (5 mL-volymer) för beredning av standardinokulat.[8]
2. Bariumsulfat, jämförelsestandard (0,5 mL 0,048 M $BaCl_2$ [1,175 % vikt/volym $BaCl_2 . 2H_2O$] till 99,5 mL 0,18 M [0,36 N] $H_2SO_4$ [1 % volym/volymprocent]) eller
3. Fotometrisk utrustning för justering av inokulatsuspensionens grumlighet till motsvarande 0,5 McFarland standard.
4. Som alternativ till ovanstående material (1–3), kan **BD Prompt™ Inoculation System** (utrustning för volumetrisk beredning av inokulat) användas.[7,8,25]
5. Kontrollodlingar enligt CLSI: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 och ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 och *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.[10]
   Kontrollodlingar enligt EUCAST: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 och ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 och ATCC 51299, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 och *Staphylococcus aureus* NCTC 12493.[18]

6. Papperslappar impregnerade med angivna mängder antimikrobiella agens,[7,8] till exempel **BD Sensi-Disc™** susceptibility test discs (lappar för resistensbestämning).
7. Applikator, till exempel **BD Sensi-Disc** 6-, 8- eller 12-platsapplikator. En lämplig applikator finns också tillgänglig för de fyrkantiga plattorna med Mueller Hinton II-agar.
8. Linjal eller annan mätutrustning för att mäta zonstorlek i millimeter.
9. Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

**Provtyper**

Den här produkten används för resistensbestämning med rena odlingar som har isolerats från kliniska prover (se även **KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR**). Det har föreslagits att direkt antimikrobiell resistensbestämning kan utföras på blododlingar och urinodlingar. Testerna bör dock upprepas och bekräftas med rena odlingar.[21–24]

**Testförfarande**

Denna metodik beskriver den direkta kolonisuspensionsmetod som rekommenderas av CLSI[7] och EUCAST[8]:

1. Säkerställ att en ren, färsk (=över natten) odling från ett icke-selektivt medium, t.ex. blodagar, är tillgänglig.
   Enligt CLSI: För rutinmässiga resistensbestämningar kan inokulatet beredas genom att göra en direkt koksaltlösning eller buljongsuspension av kolonierna.
   Enligt EUCAST: För rutinmässiga resistensbestämningar kan inokulatet beredas genom att göra en direkt koksaltlösning av flera morfologiskt likartade kolonier.
2. Justera suspensionen omedelbart till en grumlighet på 0,5 McFarland för bariumsulfatstandarder utan inkubering. Grumligheten i standarden och testokulatet bör jämföras genom att hålla rören framför en vit bakgrund med fint dragna svarta linjer, eller så kan en fotometrisk anordning användas.
3. Alternativa metoder för beredning av inokulat med enheter som tillåter direkt standardisering av inokulat utan justering av grumlighet, såsom **BD Prompt Inoculation System**, har befunnits vara acceptabla för rutinmässiga analyseringssyften.[25]
4. Använd helst inokulatet inom 15 min. Suspensionen måste alltid användas inom 60 min efter beredning. Doppa en steril bomullspinne i det korrekt utspädda inokulatet och rotera den ordentligt mot rörets övre innervägg flera gånger för att avlägsna överflödig vätska och undvika överinokulering.
5. Inokulera plattans hela agaryta tre gånger, vrid plattan 60° mellan utstryken för en jämn inokulation.
6. Enligt CLSI: Locket kan lämnas på glänt i 3 till 5 minuter medan plattan förvaras i rumstemperatur, men inte längre än 15 minuter, så att eventuell fukt på ytan kan absorberas innan de antimikrobiellt impregnerade lapparna appliceras. Applicera lapparna med hjälp av en applikator för antimikrobiella lappar under iakttagande av aseptiska försiktighetsåtgärder. Placera lapparna så att mittpunkterna är minst 24 mm från varandra.
   Enligt EUCAST: Applicera lapparna på den torkade plattan inom 15 min från inokuleringen under aseptiska förhållanden. Placera max sex lappar på plattan.
7. Efter att lapparna har placerats på agarn ska de tryckas ned med en steril nål eller pincett så att de har fullständig kontakt med mediets yta. Detta steg är inte nödvändigt om lapparna applicerats med **BD Sensi-Disc** automatisk applikator.
8. Inom 15 minuter efter att lapparna har applicerats ska plattorna vändas och placeras i inkubatorn. Plattorna får inte inkuberas under en ökad koncentration av koldioxid. Rekommenderade inkuberingsförhållanden har beskrivits av CLSI och EUCAST.[7,8,10,11]

**Avläsning av resultat**

1. Efter inkubation bör en sammanhängande ”matta” av växt ses. Om endast isolerade kolonier växer var inokulatet för tunt, och bestämningen bör göras om.
2. Enligt CLSI: Mät diametern på zonerna med fullständig hämning (enligt bedömning med blotta ögat), inklusive lappens diameter, till närmaste hela millimeter med ett skjutmått, en linjal eller mall som iordningsställts i detta syfte. Mätinstrumentet hålls på botten av den uppochnedvända plattan, vilken hålls över en svart, icke-reflekterande bakgrund och belyses från ovan.[7]
   Enligt EUCAST: Mät diametern på zonerna med fullständig hämning (enligt bedömning med blotta ögat), inklusive lappens diameter, till närmaste hela millimeter med hjälp av ett skjutmått eller en linjal. Mätinstrumentet hålls på botten av den uppochnedvända plattan, vilken hålls över en svart bakgrund som belyses med reflekterat ljus. Plattan hålls ca 30 cm från ögat.[8]

3. Slutpunkten ska tas där området inte visar någon tydlig växt som kan detekteras med blotta ögat. Bortse från svag växt av mycket små kolonier som kan detekteras med svårighet nära hämningszonens tydliga kant.
4. Enligt CLSI: *Staphylococcus aureus* som testas med oxacillinlappar är ett undantag, liksom enterokocker som testas med vankomycin. I dessa fall bör transmitterande ljus användas för att detektera en skugga av tillväxt runt lappen, vilken uttrycks av ”okult reistenta” MRSA-stammar eller vankomycinresistenta enterokocker.[7,26] Med arten *Proteus* ska man inte räkna med svärmning inne i zonen om hämningszonen är tillräckligt distinkt för att mätas. Bortse därför från en lätt tillväxt (20 % eller mindre av tillväxtmattan) med trimetoprim och sulfonamider, eftersom antagonister i mediet kan möjliggöra en viss svag tillväxt. Mät den mer markerade kanten för att bestämma zondiametern.
   Enligt EUCAST: I händelse av dubbla zoner ska den inre zonen mätas såvida inget annat anges specifikt.[8]

**Beräkning och tolkning av resultat**
Enligt CLSI:
Zondiametrar som mäts runt lapparna bör jämföras med de som finns i tabellerna 2A till 2D i CLSI-dokumentet M100 (M2).[10] Erhållna resultat med specifika organsimer kan sedan rapporteras som resistenta, intermediära eller känsliga.
Enligt EUCAST**:**
Tolka zondiametrar med brytpunktstabellerna som referens.[11] Erhållna resultat med särskilda organismer kan sedan rapporteras som resistenta eller känsliga. Ytterligare information om särskilda tillväxtegenskaper, tolkning och andra vägledningsdokument kan erhållas från EUCAST.

## KLINISKA PRESTANDA OCH PROCEDURENS BEGRÄNSNINGAR
Mueller Hinton-agar är det standardmedium som används för resistensbestämning av snabbt växande aeroba eller fakultativt anaeroba bakterier, till exempel stafylokocker, enterokocker, medlemmar av *Enterobacteriaceae* och aeroba gramnegativa stavar (t.ex. *Pseudomonas* spp). Vägledningsdokumenten för tolkning av känslighet uppdateras varje år och den senaste versionen ska användas för en korrekt tolkning av de erhållna resultaten.[10,11] Andra förfaranden, medier och förhållanden har utarbetats för testning av svårodlade arter, dvs. *Haemophilus* spp*., Neisseria* spp. och *Streptococcus pneumoniae* och streptococci.

Det CLSI- och EUCAST-standardiserade förfarandet ska inte användas för att testa obligat anaeroba organismer, organismer som uppvisar en dålig eller långsam tillväxt på Mueller Hinton-agar, eller organismer som uppvisar uttalad stam-till-stam-variation avseende tillväxthastighet.[7,8] Svårodlade organismer (t.ex. *Haemophilus influenzae*) bör testas enligt rekommendationerna från CLSI och EUCAST.[7,8]

**Intern prestandautvärdering**
Prestandan hos **BD Mueller Hinton II Agar** (alla plattformat) validerades internt med rekommenderade kvalitetskontrollstammar, inklusive sådana som har karaktäristiska resistensmekanismer (*Escherichia coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumonia*e ATCC 700603, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Staphylococcus aureus* NCTC 12493, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 med amoxicillin-klavulansyra AMC-3).[19,20,34]
Tabell 2 sammanfattar de validerade antimikrobiella agensen för kvalitetskontrollstammarna och stammarna med karaktäristiska resistensmekanismer. Om inget annat anges låg de bestämda hämningszonernas storlekar för de validerade antimikrobiella agensen inom de diameterintervall som CLSI och EUCAST specificerat för hämningszonerna.[19,20]
Ytterligare prestandastudier av kliniska MRSA-isolat med *mecC*-resistenstypen indicerade att **BD Mueller Hinton II Agar** korrekt detekterar *mecC*-positiva MRSA-stammar.[34,35]

**Tabell 2:** Översikt över validerade antimikrobiella agens och kvalitetskontrollstammar. Om inget annat anges låg hämningszonernas diametrar inom respektive CLSI- och/eller EUCAST-intervall.[19,20]

| **Antimikrobiellt agens** | **Lappens innehåll (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] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Amikacin | AN-30 | ✓ | ✓ | | ✓ | | | | |
| Amoxicillin-klavulansyra | AMC-3 | | | | ✓ | | | | |
| | AMC-30 | ✓ | | | | [5] | | | |
| Ampicillin | AM-2 | | | [3] | ✓ | | | | |
| | AM-10 | ✓ | | | | | | | |
| Ampicillin-sulbactam | SAM-20 | ✓ | | | | ✓ | | | |
| Aztreonam | ATM-30 | ✓ | ✓ | | | | | ✓ | |
| Benzylpenicillin | P-1 | | | | ✓ | | | | |
| Cefadroxil | CFR-30 | ✓[1] | | | | | | | |
| Cefalexin | CN-30 | ✓[1] | | | | | | | |
| Cefepim | FEP-30 | ✓ | ✓ | | | | | | |
| Cefexim | CFM-5 | ✓ | | | | | | | |
| Cefotaxim | CTX-5 | ✓[2] | | | | | | ✓[2] | |
| Cefoxitin | FOX-30 | ✓ | | | ✓ | | ✓ | | |
| Cefpodoxim | CPD-10 | ✓ | | | | | | ✓ | |
| Ceftarolin | CPT-5 | ✓[2] | | | ✓ | | | | |
| Ceftazidim | CAZ-10 | ✓[2] | ✓[2] | | | | | ✓[2] | |
| Ceftibuten | CFT-30 | ✓ | | | | | | | |
| Ceftriaxon | CRO-30 | ✓ | | | | | | ✓ | |
| Cefuroxim | CXM-30 | ✓ | | | | | | | |
| Kloramfenikol | C-30 | ✓ | | | ✓ | | | | |
| Ciprofloxacin | CIP-5 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |
| Klindamycin | CC-2 | | | | ✓ | | | | |
| Doripenem | DOR-10 | ✓ | ✓ | | | | | | |
| Ertapenem | ETP-10 | ✓ | | | | | | | |
| Erytromycin | E-15 | | | | ✓ | | | | |
| Fusidinsyra | FA-10 | | | | ✓ | | | | |
| Gentamicin | GM-10 | ✓ | ✓ | | ✓ | | | | |
| | GM-30 | | | ✓ | | | | | ✓ |
| Imipenem | IPM-10 | ✓ | ✓ | ✓ | | | | | |
| Levofloxacin | LVX-5 | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | | | | |
| Linezolid | LZD-10 | | | ✓ | ✓ | | | | |
| Mecillinam | MEC-10 | ✓ | | | | | | | |
| Meropenem | MEM-10 | ✓ | ✓ | | | | | | |
| Minocyklin | MI-30 | | | | ✓ | | | | |
| Moxifloxacin | MXF-5 | ✓ | | | ✓ | | | | |
| Mupirocin | MUP-200 | | | | ✓ | | | | |
| Nalidixinsyra | NA-30 | ✓ | | | | | | | |

**Tabell 2:** Forts.

| Antimikrobiellt agens | Lappens innehåll (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] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Netilmicin | NET-10 | ✓[2] | ✓[2] | | ✓ | | | | |
| Nitrofurantoin | FM-100 | ✓[2] | | ✓ | ✓ | | | | |
| Norfloxacin | NOR-10 | ✓ | | ✓ | ✓ | | | | |
| Ofloxacin | OFX-5 | ✓ | | | ✓ | | | | |
| Pefloxacin | PEF-5 | ✓ | | | | | | | |
| Piperacillin | PIP-30 | ✓[2] | | | | | | | |
| Piperacillin-tazobaktam | PIP-30/TAZ-6 | ✓[2] | ✓[2] | | | ✓[2] | | | |
| Quinupristin-dalfopristin | SYN-15 | | | ✓ | ✓ | | | | |
| Rifampicin | RA-5 | | | | ✓ | | | | |
| Streptomycin | S-300 | | | [6] | | | | | |
| Teikoplanin | TEC-30 | | | ✓ | | | | | ✓ |
| Tetracyklin | TE-30 | | | | ✓ | | | | |
| Ticarcillin | TIC-75 | ✓ | | | | | | | |
| Ticarcillin-klavulansyra | TIM-85 | ✓ | ✓ | | | ✓ | | | |
| Tigecyklin | TGC-15 | ✓ | | ✓ | ✓ | | | | |
| Tobramycin | NN-10 | ✓ | ✓ | | ✓ | | | | |
| Trimetoprim | TMP-5 | ✓ | | ✓ | [4] | | | | |
| Trimetoprim-sulfametoxazol | SXT1,25–23,75 | ✓ | | ✓ | ✓ | | | | |
| Vankomycin | VA-5 | | | ✓ | | | | | ✓ |

✓ Indikerade hämningszoner ligger inom EUCAST- och CLSI-intervallen.
[1] CLSI rekommenderar inte att det antimikrobiella agenset testas.
[2] CLSI och EUCAST rekommenderar olika koncentrationer av det antimikrobiella agenset. EUCAST:s rekommendationer har följts.
[3] Hämningszonen för det antimikrobiella agenset ligger inte inom det rekommenderade EUCAST-intervallet (Mueller Hinton II-agar, 150 mm och fyrkantigt).
[4] Hämningszonen för det antimikrobiella agenset ligger inte inom det rekommenderade EUCAST-intervallet (Mueller Hinton II-agar, 90 mm).
[5] Hämningszonen för det antimikrobiella agenset ligger inte inom de rekommenderade EUCAST- och CLSI-intervallen (Mueller Hinton II-agar, 90 mm).
[6] Hämningszonen för det antimikrobiella agenset ligger inte inom det rekommenderade CLSI-intervallet (Mueller Hinton II-agar, 90 och 150 mm), men det ligger inom det rekommenderade EUCAST-intervallet.

## Procedurens begränsningar

Lappdiffusionstestet för resistensbestämning är utformat för användning endast med rena odlingar. En gramfärgning och en presumtiv identifiering av isolatet rekommenderas innan resistensbestämningen förbereds.

Vid vissa kombinationer av organismer/antimikrobiella ämnen har hämningszonen inte alltid en skarpt avgränsad kant, vilket kan leda till feltolkning.

Olika faktorer som påverkar resistensbestämning med lappdiffusion har identifierats. Dessa omfattar mediet, agardjupet, lappens läkemedelskoncentration, inokulatets koncentration, inokulatets ålder samt pH.[31]

Olämplig inokulatkoncentration kan producera felaktiga resultat. Hämningszonerna kan vara för små om inokulatet är för tungt, och för stora och svåra att mäta om inokulatet är för lätt. Därför rekommenderas det starkt att man följer CLSI- och EUCAST-rekommendationerna för hantering av inokulat och inokulerade plattor för att minimera den potentiella risken för felaktiga resultat på grund av felaktig hantering. Felaktig förvaring av antibiotikalappar kan orsaka försvagad läkemedelskoncentration och ett falskt resistensresultat. Svår krympning av detta medium på grund av felaktig förvaring kan leda till falska resistensresultat.
En organisms känslighet in vitro mot ett specifikt antimikrobiellt agens betyder inte nödvändigtvis att detta agens kommer att vara effektivt in vivo. Se tillämpliga referenser för vägledning avseende tolkning av resultat.[10,11,32,33]
Bakterier som kräver tymin eller tymidin kan påträffas.[27,28] Dessa organismer kan inte växa tillfredsställande på Mueller Hinton-agar som innehåller låga nivåer av tymin eller tymidin. Nya förfaranden har utvecklats där man använder lappar med hög koncentration av gentamicin (120 mg) och streptomycin (300 mg) för att screena för resistens på hög nivå för aminoglykosider som en indikation på att ett enterokockisolat inte kommer att påverkas synergistiskt av en kombination av ett penicillin eller en glykopeptid plus en aminoglykosid.[7,28,29]
För fullständiga diskussioner avseende detektionen av MRSA, resistenta enterokocker, bredspektrum-ß-laktamasproducerande, gramnegativa bakterier och andra testbegränsningar, se CLSI-dokumenten M2 och M7 samt information från EUCAST.[7,8,10,11,30]
Mueller Hinton II-agar har visat sig vara pålitligt vid detektionen av MRSA, vilken producerar en skuggig hämningszon runt oxacillinlappar.[26] Vid tveksamhet bör en ytterligare metod, till exempel **BD Oxacillin Screen Agar** användas.
Inokulationsmetoden, tolkningen, rekommendationerna och zongränserna som ges i detta dokument, och som rekommenderas av CLSI och EUCAST, kan skilja sig från nationella standarder.[7,8,31]

## REFERENSER


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.

## FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

**BD Mueller Hinton II Agar (Stacker-plattor 90 mm,** [standardstorlek]**)**

| | |
|---|---|
| Kat. nr. 254032 | Färdiga odlingsplattor, 20 plattor |
| Kat. nr. 254081 | Färdiga odlingsplattor, 120 plattor |

**BD Mueller Hinton II Agar (150 mm)**

| | |
|---|---|
| Kat. nr. 254062 | Färdiga odlingsplattor, 20 plattor |

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

| | |
|---|---|
| Kat. nr. 254518 | Färdiga odlingsplattor, 20 plattor |

## YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.

**Becton Dickinson GmbH**
Tullastrasse 8-12
69126 Heidelberg/Tyskland
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/

Varumärken tillhör respektive ägare.
© 2017 BD. BD, BD-logotypen och alla andra varumärken tillhör Becton, Dickinson and Company.