BD Mueller Hinton Fastidious Agar (MH-F)

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ

Το **BD Mueller Hinton Fastidious Agar (MH-F)** χρησιμοποιείται για την εξέταση της αντιμικροβιακής ευαισθησίας κλινικά απομονωμένων στελεχών απαιτητικών μικροοργανισμών σύμφωνα με την τυποποίηση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για τον Αντιμικροβιακό Έλεγχο Ευαισθησίας (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST).[1] Αυτό το υλικό καλλιέργειας αποτελείται από άγαρ Mueller Hinton συμπληρωμένο με 5% μηχανικά απινωδογονωμένο αίμα αλόγου και 20 mg/L β-NAD (νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο). Σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες της EUCAST συνιστάται η χρήση του MH-F για απαιτητικούς μικροοργανισμούς στους οποίους συμπεριλαμβάνονται: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus* ssp., *Moraxella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni* και *coli*, στρεπτόκοκκοι της ομάδας viridans, στρεπτόκοκκοι των ομάδων A, B, C και G, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida* καθώς και *Corynebacterium* spp.[2]

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Μικροβιολογική μέθοδος.

Για την εξέταση της αντιμικροβιακής ευαισθησίας απαιτητικών μικροοργανισμών (συμπεριλαμβανομένων της μεθοδολογίας διάχυσης σε δίσκο και εφαρμογής και των οδηγιών προς ανάγνωση) πρέπει να συμβουλεύεστε τις τρέχουσες διαδικασίες που συνιστά η EUCAST.[2]

Εν συντομία, για τη διαδικασία εξέτασης της αντιμικροβιακής ευαισθησίας με βάση τη μέθοδο Kirby-Bauer που χρησιμοποιείται ευρέως,[3] ένα συρρέον ενοφθάλμισμα του μικροοργανισμού επιστρώνεται με στυλεό πάνω σε ολόκληρη την επιφάνεια του υλικού καλλιέργειας. Κατόπιν τοποθετούνται χάρτινοι δίσκοι, διαποτισμένοι με καθορισμένες ποσότητες αντιβιοτικού ή άλλων αντιμικροβιακών παραγόντων, στην επιφάνεια του υλικού καλλιέργειας, επωάζεται το τρυβλίο και μετρώνται οι ζώνες αναστολής γύρω από κάθε αντιβιοτικό δίσκο. Η ερμηνεία του κατά πόσον ο μικροοργανισμός είναι ευαίσθητος (S) ή ανθεκτικός (R) απέναντι σε έναν παράγοντα γίνεται συγκρίνοντας τα μεγέθη ζωνών που ελήφθησαν, με εκείνα που αναγράφονται στους πίνακες των ορίων ευαισθησίας (breakpoint) της EUCAST.[4]

Οι χαμηλές συγκεντρώσεις θυμίνης-θυμιδίνης και τα ελεγχόμενα επίπεδα ασβεστίου και μαγνησίου στη βάση Mueller Hinton περιορίζουν την ανάπτυξη γύρω από τους δίσκους και δίνουν τη δυνατότητα για περισσότερο ακριβείς μετρήσεις των ζωνών αναστολής.[5-8] Το μη συμπληρωμένο άγαρ Mueller Hinton, παρότι επαρκεί για εξέταση ευαισθησίας των ταχέως αναπτυσσόμενων αερόβιων παθογόνων, δεν επαρκεί για περισσότερο απαιτητικούς μικροοργανισμούς οι οποίοι απαιτούν συγκεκριμένα συμπληρώματα ανάπτυξης. Η σύνθεση του άγαρ Mueller Hinton Fastidious με απινωδογονωμένο αίμα αλόγου και NAD, ενεργοποιεί την ανάπτυξη απαιτητικών βακτηρίων ενώ παράλληλα εγγυάται ελάχιστη παρεμβολή από τα συστατικά της σύνθεσης στο αποτέλεσμα της εξέτασης αντιμικροβιακής ευαισθησίας. Το άγαρ Mueller Hinton Fastidious είναι ένα κοινό υλικό καλλιέργειας για εξέταση για την πλειοψηφία απαιτητικών μικροοργανισμών όπως περιγράφεται παραπάνω και καθιστά περιττή τη χρήση ξεχωριστών υλικών καλλιέργειας για την εξέταση αντιμικροβιακής ευαισθησίας απαιτητικών μικροοργανισμών.[1]

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

BD Mueller Hinton Fastidious Agar (MH-F)

Σύνθεση* ανά λίτρο κεκαθαρμένου νερού

Εκχύλισμα κρέατος	2,0 g
Όξινο υδρόλυμα καζεΐνης	17,5 g
Άμυλο	1,5 g
Άγαρ	17,0 g
Αίμα αλόγου, μηχανικά απινωδογονωμένο	5 %

β-NAD	0,02 g
pH 7,3 ± 0,1	

*Προσαρμοσμένο ή/και συμπληρωμένο όπως απαιτείται, έτσι ώστε να πληρούνται τα κριτήρια απόδοσης.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

IVD Προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση. ②

Μη χρησιμοποιείτε τρυβλία που φέρουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης, αποχρωματισμού, ξηρότητας, ρωγμών ή άλλα ίχνη αλλοίωσης. Τυχόν υπερβολική συρρίκνωση αυτού του υλικού καλλιέργειας λόγω αποξήρανσης ενδέχεται να οδηγήσει σε ψευδή αποτελέσματα ευαισθησίας. Συμβουλευτείτε το έγγραφο **ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ** σχετικά με τις ασηπτικές διαδικασίες χειρισμού, τους βιολογικούς κινδύνους και την απόρριψη του χρησιμοποιημένου προϊόντος.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ

Κατά την παραλαβή, φυλάσσετε τα τρυβλία στο σκοτάδι σε θερμοκρασία μεταξύ 2 και 8 °C, στην αρχική συσκευασία τους έως τη στιγμή της χρήσης τους. Αποφύγετε την κατάψυξη και την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατό να ενοφθαλμιστούν έως την ημερομηνία λήξης (δείτε την ετικέτα της συσκευασίας) και να επωαστούν στους συνιστώμενους χρόνους επώασης. Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν τρυβλία από ανοιγμένες στοίβες των 10 τρυβλίων για μία εβδομάδα, εφόσον φυλάσσονται σε καθαρό χώρο στους 2 ως 8 °C.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΧΡΗΣΤΗ

Για τον ποιοτικό έλεγχο χρήστη, πρέπει να συμβουλεύεστε τις συστάσεις της EUCAST.[9] Ενοφθαλμίστε αντιπροσωπευτικά δείγματα με τα ακόλουθα στελέχη σε κάθε υλικό καλλιέργειας (για λεπτομέρειες, ανατρέξτε στις ενότητες **Τύποι δειγμάτων** και **Διαδικασία της εξέτασης**). Επωάστε τα τρυβλία, κατά προτίμηση σε ανεστραμμένη θέση, με βάση τη θερμοκρασία, το χρόνο και ατμοσφαιρική συνθήκη που αναγράφονται παρακάτω.

Πίνακας 1: Αναμενόμενα αποτελέσματα εξετάσεων για στελέχη ποιοτικού ελέγχου σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της EUCAST[9]

Στέλεχος	Αντιμικροβιακός παράγοντας	Εύρος (mm)	Επώαση
***Streptococcus pneumoniae* ATCC™ 49619**	Ερυθρομυκίνη (E-15)	26 - 32	16-20 ώρες, 35±1 °C, CO_2 ατμόσφαιρα
	Οξακιλλίνη (OX-1)	8 - 14	
	Νορφλοξασίνη (NOR-10)	18 - 24	
	Μεροπενέμη (MEM-10)	30 - 38	
	Τριμεθοπρίμη-Σουλφαμεθοξαζόλη (SXT 1,25-23,75)	18 - 26	
***Haemophilus influenzae* ATCC™ 49766**	Αμπικιλλίνη (AM-2)	19 - 25	16-20 ώρες, 35±1 °C, CO_2 ατμόσφαιρα
	Κεφουροξίμη (CXM-30)	26 - 34	
	Χλωραμφαινικόλη (C-30)	31 - 37	
	Τριμεθοπρίμη-Σουλφαμεθοξαζόλη (SXT 1,25-23,75)	27 - 35	
***Campylobacter jejuni* ATCC™ 33560** (DSM 4688)	Κιπροφλοξασίνη (CIP-5)	34 - 42	24 ώρες, 41±1 °C, μικροαερόφιλη ατμόσφαιρα
	Ερυθρομυκίνη (E-15)	27 - 35	
	Τετρακυκλίνη (TE-30)	30 - 38	
Εμφάνιση του μη ενοφθαλμισμένου υλικού καλλιέργειας	Ερυθρό έως σκούρο ερυθρό, αδιαφανές		

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Παρεχόμενα υλικά

BD Mueller Hinton Fastidious Agar. Μικροβιολογικά ελεγμένο.

Υλικά που δεν παρέχονται

1. 0,9% αλατούχο διάλυμα (ποσότητες των 5 mL) για την παρασκευή πρότυπου ενοφθαλμίσματος.

2. Πρότυπο σύγκρισης θειικού βαρίου (0,5 mL 0,048 M $BaCl_2$ [1,175% βάρ./όγκ. $BaCl_2 2H_2O$] σε 99,5 mL 0,18 M [0,36 N] H_2SO_4 [1% v/v]) ή
3. Φωτομετρική συσκευή για ρύθμιση της θολερότητας του εναιωρήματος ενοφθαλμίσματος, έτσι ώστε να είναι ισοδύναμη με το πρότυπο McFarland 0,5.
4. Ως εναλλακτική λύση στα παραπάνω υλικά (1-3), είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί το **BD Prompt Inoculation System** (συσκευή ογκομετρικής παρασκευής ενοφθαλμίσματος).[10]
5. Καλλιέργεια ελέγχου - *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Haemophilus influenzae* ATCC 49766 και *Campylobacter jejuni* ATCC 33560/DSM 4688.
6. Χάρτινοι δίσκοι διαποτισμένοι με καθορισμένες ποσότητες αντιμικροβιακών παραγόντων, όπως οι δίσκοι εξέτασης ευαισθησίας **BD Sensi-Disc** .
7. Συσκευή διανομής δίσκων, όπως ο διανεμητής αυτοσυμπίεσης **BD Sensi-Disc** 6 θέσεων.
8. Χάρακας ή άλλη συσκευή για τη μέτρηση του μεγέθους ζώνης σε χιλιοστόμετρα.
9. Θάλαμος επώασης που παράγει ατμόσφαιρα περιεκτικότητας 5% CO_2, ή άλλη συσκευή που παράγει εμπλουτισμένη με CO_2-παρόμοια ατμόσφαιρα.
10. Βοηθητικά υλικά καλλιέργειας, αντιδραστήρια και εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως απαιτείται.

Τύποι δειγμάτων
Το προϊόν αυτό χρησιμοποιείται για την εξέταση ευαισθησίας καθαρών καλλιεργειών που έχουν απομονωθεί από κλινικά δείγματα (δείτε επίσης την ενότητα **ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ**).

Διαδικασία της εξέτασης
Η μεθοδολογία αυτή περιγράφει την άμεση μέθοδο εναιωρήματος αποικιών όπως συνιστάται από την EUCAST.[2]
1. Διασφαλίστε ότι υπάρχει διαθέσιμη μια καθαρή, φρέσκια (=ολονύκτια) καλλιέργεια από ένα μη εκλεκτικό υλικό καλλιέργειας. Για εξετάσεις ευαισθησίας ρουτίνας, η προετοιμασία του ενοφθαλμίσματος μπορεί να γίνει μέσω εναιωρήματος αλατούχου διαλύματος από μορφολογικά παρόμοιες αποικίες.
2. Ρυθμίστε το ενοφθάλμισμα στην πυκνότητα προτύπου McFarland 0,5 χρησιμοποιώντας μια φωτομετρική συσκευή ή οπτικά έτσι ώστε να ισοδυναμεί με το πρότυπο θειικού βαρίου (πρότυπο McFarland 0,5).
3. Εναλλακτικές μέθοδοι παρασκευής ενοφθαλμίσματος με συσκευές που επιτρέπουν την άμεση τυποποίηση των ενοφθαλμισμάτων χωρίς προσαρμογή της θολερότητας, όπως το **BD Prompt Inoculation System**, έχει διαπιστωθεί ότι είναι αποδεκτές για σκοπούς εξέτασης ρουτίνας.[10]
4. Το *Streptococcus pneumoniae* βρίσκεται, κατά προτίμηση, σε εναιώρημα από τρυβλίο άγαρ αίματος στην πυκνότητα προτύπου McFarland 0,5. Όταν το *Streptococcus pneumoniae* βρίσκεται σε εναιώρημα από τρυβλίο σοκολατούχου άγαρ, το ενοφθάλμισμα πρέπει να είναι ισοδύναμο με πρότυπο McFarland 1,0.
5. Χρησιμοποιήστε το ενοφθάλμισμα βέλτιστα εντός 15 λεπτών από τη ρύθμιση της θολερότητας. Το εναιώρημα πρέπει πάντα να χρησιμοποιείται εντός 60 λεπτών από την παρασκευή του. Εμβαπτίστε έναν στείρο στυλεό στο κατάλληλα αραιωμένο ενοφθάλμισμα και περιστρέψτε τον αρκετές φορές πιέζοντας με δύναμη επάνω στο άνω εσωτερικό τοίχωμα του σωληναρίου, έτσι ώστε να εκπιέσετε την περίσσεια υγρού και να αποφύγετε τον υπερ-ενοφθαλμισμό.
6. Ενοφθαλμίστε πάνω στο **BD Mueller Hinton Fastidious Agar** επιστρώνοντας γραμμωτά ολόκληρη την επιφάνεια του άγαρ του τρυβλίου τρεις φορές, περιστρέφοντας το τρυβλίο κατά 60° μεταξύ των γραμμωτών επιστρώσεων, έτσι ώστε να επιτύχετε ομοιόμορφο ενοφθαλμισμό.
7. Εφαρμόστε τους δίσκους στο στεγνό τρυβλίο εντός 15 λεπτών από τον ενοφθαλμισμό χρησιμοποιώντας άσηπτες προφυλάξεις. Εναποθέστε έναν μέγιστο αριθμό έξι δίσκων στο τρυβλίο. Αφού τοποθετηθούν οι δίσκοι στο άγαρ, πιέστε τους με μια στείρα βελόνα ή λαβίδα έτσι ώστε να έρθουν σε πλήρη επαφή με την επιφάνεια του υλικού. Το βήμα αυτό δεν είναι απαραίτητο εάν οι δίσκοι εναποτίθενται χρησιμοποιώντας διανεμητές αυτοσυμπίεσης **BD Sensi-Disc** .
8. Εντός 15 λεπτών μετά την εφαρμογή των δίσκων, αναστρέψτε τα τρυβλία (κατά προτίμηση) και τοποθετήστε τα στο θάλαμο επώασης. Οι συνθήκες επώασης συνοψίζονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2: Συνθήκες επώασης για διαφορετικούς απαιτητικούς μικροοργανισμούς σύμφωνα με την EUCAST[2]

Οργανισμός	Συνθήκη επώασης
Streptococcus ομάδων A, B, C και G	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Streptococcus pneumoniae	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Στρεπτόκοκκοι της ομάδας viridans	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Haemophilus spp.	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Moraxella catarrhalis	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Listeria monocytogenes	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Pasteurella multocida	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες
Corynebacterium spp.	35±1 °C σε 4-6% CO_2 σε αέρα για 16-20 ώρες. Απομονωμένα στελέχη με ανεπαρκή ανάπτυξη μετά από επώαση 16-20 ωρών επανεπωάζονται αμέσως και οι ζώνες αναστολής εξετάζονται μετά από συνολική επώαση 40-48 ωρών
Campylobacter jejuni και *coli*	41±1 °C σε μικροαερόβιο περιβάλλον για 24 ώρες. Ορισμένα απομονωμένα στελέχη *C. coli* ενδέχεται να μην έχουν επαρκή ανάπτυξη μετά από επώαση 24 ωρών. Αυτά επανεπωάζονται αμέσως και οι ζώνες αναστολής εξετάζονται μετά από συνολική επώαση 40-48 ωρών

Ανάγνωση αποτελεσμάτων

1. Μετά την επώαση, θα πρέπει να είναι ορατή συρρέουσα ανάπτυξη. Εάν έχουν αναπτυχθεί μόνον απομονωμένες αποικίες, το ενοφθάλμισμα ήταν υπερβολικά αραιό και η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.
2. Μετρήστε τη διάμετρο των ζωνών πλήρους αναστολής (όπως κρίνεται με γυμνό οφθαλμό), συμπεριλαμβανομένης της διαμέτρου του δίσκου, με ακρίβεια χιλιοστόμετρου, με χρήση συρόμενου διαβήτη ή χάρακα, αφού προηγουμένως έχετε αφαιρέσει το καπάκι και σε απόσταση περίπου 30 cm από τον οφθαλμό.
3. Ως τελικό σημείο θα πρέπει να λαμβάνεται η περιοχή που δεν εμφανίζει καμία ορατή ανάπτυξη, η οποία είναι δυνατό να εντοπιστεί με γυμνό οφθαλμό. Αγνοήστε τυχόν αμυδρή ανάπτυξη μικροσκοπικών αποικιών, οι οποίες είναι δυνατό να ανιχνευτούν με δυσκολία κοντά στην άκρη της εμφανούς ζώνης αναστολής της ανάπτυξης.
4. Σε περίπτωση διπλών ζωνών, πρέπει να μετράται η εσωτερική ζώνη εκτός αν αναφέρεται ρητά κάτι διαφορετικό.[2,4,9,11]
5. Για αιμολυτικούς στρεπόκοκκους, αναγνώστε την αναστολή ανάπτυξης και όχι την αναστολή αιμόλυσης. Συνήθως δεν υπάρχει ανάπτυξη στη β-αιμόλυση, ενώ η α-αιμόλυση και η ανάπτυξη συνήθως συμπίπτουν.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Ερμηνεύστε τις διαμέτρους ζώνης με αναφορά στους πίνακες των ορίων ευαισθησίας (breakpoint).[2] Αποτελέσματα που προκύπτουν με ειδικούς μικροοργανισμούς μπορούν να αναφέρονται ως ανθεκτικά ή ευαίσθητα. Περισσότερες πληροφορίες για συγκεκριμένα χαρακτηριστικά ανάπτυξης, ερμηνείες και άλλα έγγραφα με οδηγίες, μπορούν να λαμβάνονται από την τοποθεσία www.eucast.org.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **BD Mueller Hinton Fastidious Agar** έχει σχεδιαστεί για την εξέταση της ευαισθησίας απαιτητικών μικροοργανισμών που συνιστά η EUCAST.[1] Οι πίνακες των ορίων ευαισθησίας (breakpoint) ανανεώνονται ετησίως[4] και πρέπει να συμβουλεύεστε την πιο πρόσφατη έκδοση για την ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται.

Αποτελέσματα σχετικά με τις επιδόσεις

Εσωτερική Αξιολόγηση Απόδοσης

Η επίδοση του **BD Mueller Hinton Fastidious Agar** επικυρώθηκε εσωτερικά χρησιμοποιώντας τα συνιστώμενα στελέχη ποιοτικού ελέγχου (QC)[9] (δείτε τον πίνακα 3) και 151 επιπρόσθετα προ-χαρακτηρισμένα στελέχη (δείτε τον πίνακα 4) στα οποία

συμπεριλαμβάνονται τα εξής: *Corynebacterium* spp., στρεπτόκοκκοι της ομάδας viridans, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis, Streptococcus* ομάδων A, B, C και G, *Haemophilus* ssp. και *Streptococcus pneumoniae*.

Ο πίνακας 3 συνοψίζει τους επικυρωμένους αντιμικροβιακούς παράγοντες για τα στελέχη ποιοτικού ελέγχου (QC). Εκτός εάν αναφέρεται διαφορετικά, τα καθορισμένα μεγέθη των ζωνών αναστολής για τους επικυρωμένους αντιμικροβιακούς παράγοντες βρίσκονται μέσα στα καθορισμένα από την EUCAST εύρη διαμέτρου ζώνης αναστολής.[9] Για το *H. influenzae* ATCC 49766, η αμοξυκιλλίνη/κλαβουλανικό οξύ εμφάνισε ζώνες αναστολής έξω από τα εύρη που συνιστά η EUCAST.[9] Για το *S. pneumoniae* ATCC 49616, η κεφεπίμη, η κεφποντοξίμη και η κεφουροξίμη εμφάνισαν ζώνες αναστολής έξω από τα εύρη διαμέτρων που συνιστά η EUCAST.[9]

Η εξέταση αντιμικροβιακής ευαισθησίας των 151 επιπρόσθετων χαρακτηρισμένων απαιτητικών βακτηρίων (δείτε τον πίνακα 4) υπέδειξε ικανοποιητική ανάπτυξη μετά τους συνιστώμενους χρόνους επώασης που επέτρεψαν κατάλληλη παρατήρηση των ζωνών αναστολής και καθορισμό της αντίστοιχης αντιμικροβιακής ανθεκτικότητας σύμφωνα με τα όρια ευαισθησίας (breakpoint) που συνιστά η EUCAST[4].

Πίνακας 3: Επικυρωμένοι αντιμικροβιακοί παράγοντες και στελέχη ποιοτικού ελέγχου. Εκτός εάν αναφέρεται διαφορετικά, οι διάμετροι ζώνης αναστολής βρίσκονταν μέσα στα αντίστοιχα εύρη της EUCAST.[9] Ορίζονται αποκλίνουσες ζώνες αναστολής

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Περιεχόμενο δίσκου (μg)	*H. influenzae* ATCC 49766	*S. pneumoniae* ATCC 49616	*C. jejuni* ATCC 33560
Αμπικιλλίνη	2	✓	✓	
Αμοξυκιλλίνη-κλαβουλανικό οξύ	2-1	20-30 mm[1]		
Βενζυλοπενικιλλίνη	1 μονάδα	✓	✓	
Κεφακλόρη	30		✓	
Κεφεπίμη	30	✓	35-39 mm[1]	
Κεφιξίμη	5	✓		
Κεφοταξίμη	5	✓	✓	
Κεφποντοξίμη	10	✓	33-39 mm[1]	
Κεφταρολίνη	5	-	-	
Κεφτιμπουτένη	30	✓		
Κεφτριαξόνη	30	✓	✓	
Κεφουροξίμη	30	✓	33-38 mm[1]	
Χλωραμφαινικόλη	30	✓	✓	
Κιπροφλοξασίνη	5	✓	✓	✓
Κλινδαμυκίνη	2		✓	
Δοριπενέμη	10	✓	✓	
Ερταπενέμη	10	✓	✓	
Ερυθρομυκίνη	15	✓	✓	✓
Ιμιπενέμη	10	✓	✓	
Λεβοφλοξασίνη	5	✓	✓	
Λινεζολίδη	10		✓	
Μεροπενέμη	10	✓	✓	
Μινοκυκλίνη	30	✓	✓	
Μοξιφλοξασίνη	5	✓	✓	
Ναλιδιξικό οξύ	30	✓		
Νιτροφουραντοΐνη	100		✓	
Νορφλοξασίνη	10		✓	
Οφλοξασίνη	5	✓	✓	
Οξακιλλίνη	1		✓	
Ριφαμπικίνη	5	✓	✓	
Τεϊκοπλανίνη	30		✓	
Τελιθρομυκίνη	15	✓	✓	
Τετρακυκλίνη	30	✓	✓	✓
Τιγκεκυκλίνη	15		✓	
Τριμεθοπρίμη-Σουλφαμεθοξαζόλη	1,25-23,75	✓	✓	
Βανκομυκίνη	5		✓	

✓ Υποδεικνύει ζώνες αναστολής εντός του εύρους της EUCAST.[9]

[1] Τα μέσα εύρη ζώνης αναστολής βρίσκονται έξω από τα συνιστώμενα εύρη ποιοτικού ελέγχου (QC) της EUCAST. Συμβουλευτείτε τις πιο πρόσφατες συστάσεις ποιοτικού ελέγχου (QC) της EUCAST για σύγκριση.[9] Το * *H. influenza*e NCTC 8468 εξαιρέθηκε από τους πίνακες ποιοτικού ελέγχου (QC) για το έτος 2016, λόγω χαρακτηριστικών ασυνήθιστης ανάπτυξης. *Το H. influenzae* ATCC 49766 αντίθετα συνιστάται για ποιοτικό έλεγχο (QC) ρουτίνας[9].

Πίνακας 4: Επισκόπηση των επικυρωμένων απαιτητικών μικροοργανισμών και των αντιμικροβιακών παραγόντων

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Περιεχόμενο δίσκου (μg)	Συνολικός αρ. στελεχών: 151																	
		H. influenzae	*H. parainfluenzae*	*H. aphrophilus*	*S. pneumoniae*	Στρεπτόκοκκοι των ομάδων A, B, C, G	Στρεπτόκοκκοι της ομάδας viridans	*M. catarrhalis*	*L. monocytogenes*	*C. pseudodiphtheriticum*	*C. striatum*	*C. jeikeium*	*C. amycolatum*	*C. xerosis*	*C. urealytikum*	*C. afermentans*	*C. jejuni*	*C. coli*	*P. multocida*
		19	6	1	19	41	22	7	9	4	3	3	2	1	2	1	6	4	3
Αμπικιλλίνη	2		✓				✓		✓										✓
Αμοξυκιλλίνη-κλαβουλανικό οξύ	2-1		✓					✓											✓
Βενζυλοπενικιλλίνη	1 μονάδα		✓			✓	✓		✓				✓						✓
Κεφακλόρη	30				✓														
Κεφαζολίνη	30						✓												
Κεφεπίμη	30		✓				✓	✓											
Κεφιξίμη	5		✓					✓											
Κεφοταξίμη	5		✓				✓	✓											✓
Κεφποντοξίμη	10		✓					✓											
Κεφταρολίνη	5																		
Κεφτιμπουτένη	30		✓																
Κεφτριαξόνη	30		✓				✓	✓											
Κεφουροξίμη	30		✓				✓	✓											
Χλωραμφαινικόλη	30		✓		✓	✓		✓											
Κιπροφλοξασίνη	5		✓		✓			✓					✓					✓	✓
Κλινδαμυκίνη	2				✓	✓	✓						✓						
Δοριπενέμη	10		✓					✓											
Ερταπενέμη	10		✓					✓											
Ερυθρομυκίνη	15		✓		✓	✓		✓	✓									✓	
Γενταμυκίνη	10												✓						
Ιμιπενέμη	10		✓					✓											
Λεβοφλοξασίνη	5		✓		✓	✓		✓											✓
Λινεζολίδη	10				✓	✓							✓						
Μεροπενέμη	10		✓					✓	✓										
Μινοκυκλίνη	30		✓		✓	✓		✓											
Μοξιφλοξασίνη	5		✓		✓	✓		✓					✓						
Ναλιδιξικό οξύ	30		✓					✓											✓
Νιτροφουραντοΐνη	100					✓													
Νορφλοξασίνη	10				✓	✓													
Οφλοξασίνη	5		✓		✓			✓											
Οξακιλλίνη	1				✓														
Ριφαμπικίνη	5		✓		✓	✓							✓						
Τεϊκοπλανίνη	30				✓	✓	✓												
Τελιθρομυκίνη	15		✓		✓	✓		✓											
Τετρακυκλίνη	30		✓		✓	✓		✓					✓					✓	✓
Τιγκεκυκλίνη	15					✓													
Τριμεθοπρίμη	5					✓													
Τριμεθοπρίμη-Σουλφαμεθοξαζόλη	1,25-23,75		✓		✓	✓		✓	✓										✓
Βανκομυκίνη	5				✓	✓	✓						✓						

Εξωτερική Αξιολόγηση Απόδοσης
Σε μια εξωτερική αξιολόγηση απόδοσης, εξετάστηκαν 169 (χαρακτηρισμένα) κλινικά απομονωμένα στελέχη στο BD Mueller Hinton Fastidious Agar. Μια ταυτόχρονη σύγκριση των αποτελεσμάτων ευαισθησίας με άλλο διαθέσιμο υλικό καλλιέργειας Mueller Hinton Fastidious υπέδειξε ποσοστό ισοδυναμίας της τάξεως 99,8% για την καθορισμένη κατηγορία ανθεκτικότητας (αντιστοίχως ευαίσθητο (S), ανθεκτικό (R) ή ενδιάμεσο (I)). Το BD MH-F υποστήριξε ικανοποιητική ανάπτυξη για όλους τους εξεταζόμενους μικροοργανισμούς μετά από επώαση στον συνιστώμενο χρόνο επώασης.

Πίνακας 5: Εξετασθέντα κλινικά απομονωμένα στελέχη στο BD Mueller Hinton Fastidious Agar (MH-F) κατά την εξωτερική αξιολόγηση απόδοσης

Στέλεχος/Απομονωμένο στέλεχος	**Αρ. στελέχους**	**Εξετασθέντα αντιβιοτικά**
Haemophilus influenzae	28	24
Streptococcus pneumoniae	32	27
Campylobacter jejuni	31	3
Streptococcus ομάδων A, B, C και G	10	9
Στρεπτόκοκκοι της ομάδας viridans	10	14
Moraxella catarrhalis	11	9
Pasteurella multocida	4	9
Pasteurella canis	1	9
Listeria monocytogenes	10	5
Campylobacter coli	10	3
Corynebacterium ssp.	10	9
Haemophilus ssp.	12	6
Συνολικός αρ. στελεχών	**169**	

Περιορισμοί της διαδικασίας
Η εξέταση ευαισθησίας με διάχυση σε δίσκο έχει σχεδιαστεί για χρήση με καθαρές καλλιέργειες μόνον. Πριν από την παρασκευή της εξέτασης ευαισθησίας, συνιστάται εκτέλεση χρώσης Gram και συμπερασματική ταυτοποίηση του απομονωμένου στελέχους.
Για κάποιους συνδυασμούς μικροοργανισμών και αντιμικροβιακών παραγόντων, η ζώνη αναστολής ενδέχεται να μην έχει ευδιάκριτα οριοθετημένη άκρη (παρατηρήθηκαν ασαφείς άκρες ζώνης με το *S. pneumoniae*), γεγονός που θα ήταν δυνατό να οδηγήσει σε εσφαλμένη ερμηνεία. Συμβουλευτείτε τον οδηγό ανάγνωσης της EUCAST για λεπτομερείς πληροφορίες.[11]
Έχουν αναγνωριστεί διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν τις εξετάσεις ευαισθησίας με διάχυση σε δίσκο. Αυτοί περιλαμβάνουν το υλικό καλλιέργειας, το βάθος του άγαρ, την ισχύ του δίσκου, τη συγκέντρωση του ενοφθαλμίσματος, την ηλικία του ενοφθαλμίσματος και το pH.[12]
Τυχόν εσφαλμένη συγκέντρωση ενοφθαλμίσματος ενδέχεται να δώσει εσφαλμένα αποτελέσματα. Οι ζώνες αναστολής ενδέχεται να είναι υπερβολικά μικρές, εάν το ενοφθάλμισμα είναι υπερβολικά πυκνό, ή υπερβολικά μεγάλες και δύσκολες στη μέτρηση, εάν το ενοφθάλμισμα είναι υπερβολικά αραιό. Επομένως, συνιστάται έντονα να ακολουθήσετε τις κατευθυντήριες οδηγίες της EUCAST για το χειρισμό του ενοφθαλμίσματος και των ενοφθαλμισμένων τρυβλίων για την ελαχιστοποίηση του πιθανού κινδύνου εσφαλμένων αποτελεσμάτων λόγω ακατάλληλου χειρισμού.[1] Τυχόν εσφαλμένη φύλαξη των αντιμικροβιακών δίσκων ενδέχεται να προκαλέσει απώλεια της ισχύος και τη λήψη ψευδώς ανθεκτικού αποτελέσματος. Τυχόν υπερβολική συρρίκνωση του υλικού καλλιέργειας λόγω ακατάλληλης αποθήκευσης ενδέχεται να οδηγήσει σε ψευδή αποτελέσματα ευαισθησίας.
Η in vitro ευαισθησία ενός μικροοργανισμού σε έναν συγκεκριμένο αντιμικροβιακό παράγοντα δε σημαίνει απαραίτητα ότι ο παράγοντας θα είναι αποτελεσματικός in vivo. Για καθοδήγηση στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, να συμβουλεύεστε τις κατάλληλες αναφορές.[12,13]

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Matuschek, E., Brown, D.F. and Kahlmeter, G. 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.
2. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Αναζητήστε την πιο πρόσφατη έκδοση στην τοποθεσία http://www.eucast.org.*
3. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M, Sherris, J.C., and Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 1966: 45:493-496.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. http://www.eucast.org.
5. Koch, A.E. and Burchall, J.J. Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. Appl. Microbiol. 1971; 22:812-817.
6. Ferone, R., Bushby, S.R.M., Burchall, J.J., Moore, W.D., and Smith, D. 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. 1975; 7:91-98.
7. Reller, L.G., Schoenknecht, F.D., Kenny, M.A., and Sherris, J.C. Antibiotic susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. J. Infect. Dis. 1974: 130:454-463.
8. D'Amato, R.F., and Thornsberry, C. Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. Current Microbiol. 1979: 2:135-138.
9. 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.
10. Baker, C.N., Thornsberry, C. and Hawkinson R.W. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. J. Clin. Microbiol. 1983: 17:450-457.
11. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Reading guide. EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. *Αναζητήστε την πιο πρόσφατη έκδοση στην τοποθεσία http://www.eucast.org.*
12. Washington, J.A., and Woods G.L. 1995. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. p. 1327-1341. In Murray, 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.

Neumann, M.A., Sahm, D.F., Thornsberry, C., McGowan, J.E., 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.

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ / ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

BD Mueller Hinton Fastidious Agar

Αρ. κατ.	**Περιγραφή**
REF 257491	Υλικά καλλιέργειας σε τρυβλία έτοιμα για χρήση, 20 τρυβλία

ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD.

Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
69126 Heidelberg/Germany
Phone: +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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BBL, BD, BD logo, Difco and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company
© 2016 Becton, Dickinson and Company