

Agar Mueller Hinton E (MHE)

IVD

Destinația utilizării

Studiul sensibilității la agenți antimicrobieni.

Agarul Mueller Hinton E este un mediu pentru testarea difuzimetrică a sensibilității la antimicrobiene și determinarea Concentrației Minime Inhibitorii (CMI) prin utilizarea metodei ETEST®.

Mediul a fost dezvoltat în conformitate cu recomandările EUCAST (Comitetul European pentru Testarea Sensibilității la agenți Antimicrobieni) și CLSI (Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.).^{1,2,3,4,5,6}

Explicație și principiu

Compoziția acestui mediu permite creșterea bacteriilor nepretențioase (*Enterobacterales*, bacili Gram-negativi nefermentativi, *staphylococci* și *enterococci*) întâlniți în condiții patologice, în timp ce garantează o interferență minimă de la constituenții formulei în rezultatul testului sensibilității la agenți antimicrobieni.^{1,2}

Concentrația ionilor bivalenți din agar asigură o determinare optimă a sensibilității pentru antibioticele care au o activitate cation-dependentă. Concentrația scăzută de timină-timidină (inhibitori ai sulfonamidelor) restricționează creșterea în jurul discurilor, permițând măsurarea cu mai mare precizie a zonelor de inhibiție.⁷

Compoziția mediului

Formula teoretică

Este posibil ca acest mediu să fi fost ajustat și/sau suplimentat în funcție de criteriile de performanță urmărite:

Peptonă din cazeină (bovină) ^(a)	20,5 g
Amestec de peptone (bovine, vegetal) ^(a)	2,35 g
Extract de carne (bovină, porcină) ^(a)	0,3 g
Sare ionică	0,36 g
Compus A ^(a)	0,14 g
Amidon din cartofi (vegetal)	0,5 g
Factor de creștere	2,03 g
Compus B ^(a)	0,07 g
Agar (vegetal) ^(a)	15,5 g
Apă purificată	1 l
pH 7,3	

^(a) Materie primă critică

Atenționări și măsuri de precauție

- Destinat numai diagnosticării *in vitro*.
- A se utiliza numai de către personal calificat.
- Kitul conține produse de origine animală. Cunoașterea certificată a originii și/sau a stării sanitare a animalelor nu garantează în totalitate absența agenților patogeni transmisibili. De aceea, se recomandă ca aceste produse să fie tratate ca fiind potențial infecțioase și manipulate respectând măsurile de precauție obișnuite (a nu se ingera; a nu se inhala).
- Toate speciile, culturile microbiene și produsele inoculate trebuie să fie considerate infecțioase și manipulate în mod corespunzător. Pe tot parcursul acestei proceduri trebuie respectate tehnicile aseptice și măsurile de precauție

obișnuite pentru manipularea grupului de bacterii studiat. Consultați documentul „CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections (Protejarea personalului de laborator împotriva infecțiilor contactate la locul de muncă); Norme aprobate - Revizia curentă”. Pentru măsuri de precauție suplimentare privind manipularea, consultați „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biosecuritatea în laboratoarele de microbiologie și biomedicină) - CDC/NIH - Cea mai recentă ediție” sau reglementările aflate în vigoare în fiecare țară.

- Mediile nu trebuie utilizate ca materiale sau componente de producție.
- Nu folosiți reactivii după data expirării.
- Nu utilizați reactivii dacă ambalajul este deteriorat.
- Nu utilizați plăcile care sunt contaminate, umede sau au un mediu retractat.
- Utilizarea mediului în conformitate cu alte standarde în afară de cele EUCAST sau CLSI trebuie validată de către utilizator.
- Interpretarea rezultatelor testului trebuie efectuată luând în considerare speciile bacteriene în cauză (rezistență naturală), contextul epidemiologic și, în cazul în care este necesar, rezultatele oricăror altor teste efectuate.
- Discurile impregnate cu antibiotic folosite cu acest mediu trebuie validate de către utilizator.

Reactivi și materiale necesare, dar nefurnizate

Reactivi:

- Discuri impregnate cu antibiotice.
- Benzi ETEST®

Materiale:

- Echipament general de laborator de microbiologie.
- Incubator pentru bacteriologie.

Condiții de păstrare

- Păstrați plăcile în cutia lor, la temperaturi cuprinse între +2 °C și +8 °C până la data expirării.
- În cazul în care nu pot fi păstrate în cutie, plăcile pot fi păstrate timp de 2 săptămâni la +2 °C până la +8 °C în ambalaj.
- Asigurați-vă ca toate informațiile de identificare a dispozitivului de pe ambalaj sunt marcate pe recipientul de depozitare: număr articol (01), număr lot (10) și data expirării (17).

Specimene

Acest mediu nu este destinat pentru cultivarea directă a specimenelor biologice.

Acesta trebuie inoculat cu tulpini pure calibrate obținute prin cultură pe o placă Petri.

Procedura

Scoateți reactivii din ambalaj chiar înainte de utilizare.

Lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei.

Testarea sensibilității la agenți antimicrobieni prin metoda difuzimetrică (cu discuri)

Pentru a efectua testul sensibilității la agenții antimicrobieni, consultați procedurile și standardele EUCAST sau CLSI.^{1,5,6}

Determinarea CMI prin utilizarea metodei ETEST®

Consultați instrucțiunile de utilizare ETEST® curente.

Rezultatele și interpretarea

Testarea sensibilității la agenți antimicrobieni prin metoda difuzimetrică (cu discuri)

- Consultați recomandările EUCAST sau CLSI.^{2,3,5,6} Consultați Ghidul EUCAST pentru măsurarea diametrelor, în special în cazul de regenerare sau zone duble.

- După incubare, măsurați diametrul zonei de inhibiție a creșterii din jurul discului cu antibiotic. Sensibilitatea tulpinii la fiecare dintre antibioticele testate poate fi definită pe baza valorilor obținute (S: Sensibil, I: Intermediar și R: Rezistent).

Determinarea CMI prin utilizarea metodei ETEST®

Consultați instrucțiunile de utilizare ETEST® curente. Consultați recomandările EUCAST sau CLSI.^{4,5}

Observație: Pentru interpretarea corectă a testului, trebuie obținute colonii confluențe.

Controlul de calitate

Protocol:

Performanța mediului poate fi testată folosind următoarele tulpini:

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

Rezultatele așteptate în conformitate cu standardele EUCAST și CLSI:^{3,5}

Antibiotic	Zona de inhibiție (mm)	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853™
Ampicilină 10 µg	16 – 22	
Ciprofloxacină 5 µg		25 – 33
Gentamicină 10 µg	19 – 26	
Imipenem 10 µg		20 – 28
Tobramicină 10 µg		20 – 26

Observație:

Controlul de calitate al testului sensibilității trebuie efectuat conform recomandărilor EUCAST sau CLSI.^{5,6}

Este responsabilitatea utilizatorului să efectueze Controlul de Calitate luând în considerare destinația de utilizare a mediului, și în conformitate cu orice reglementări locale aplicabile (frecvența, numărul de tulpini, temperatura de incubare etc.).

Limitările metodei

- Agarul Mueller Hinton E este un mediu cu o capacitate nutritivă scăzută, folosit pentru a standardiza zonele de inhibiție obținute. Din acest motiv, anumite tulpini pretențioase nu cresc pe acest mediu.
- Creșterea microbiană depinde de cerințele fiecărui microorganism individual. Astfel, este posibil ca anumite tulpini care necesită condiții specifice să nu se dezvolte.
- Diferiți factori, precum pH-ul și peptonele, pot influența testele de sensibilitate. Zona de inhibare poate prezenta o difuzie variabilă în cazul unor combinații organism-agent antimicrobian, ceea ce poate conduce la o interpretare incorectă.

Performanță analitică

Fertilitate

Un panou de 30 de tulpini nepretențioase a fost testat pe mediul de agar Mueller Hinton E. Acesta include 5 *Enterobacteriales*, 15 bacterii gram-pozitive nefermentative, 5 *Staphylococcus aureus* and 5 *Enterococcus*.

Pentru fiecare tulpină, prepararea unui inocul calibrat care a fost inoculat cu un tampon steril pe întreaga suprafață a agarului, în conformitate cu instrucțiunile de utilizare.

Toate tulpinile au prezentat o creștere bună, cu colonii confluențe.

Veridicitate

Performanța a fost evaluată cu ajutorul tulpinilor de control al calității definite de EUCAST și CLSI.^{3,5}

Testarea sensibilității la agenți antimicrobieni prin metoda difuzimetrică (cu discuri)

Tulpini pentru Controlul de CalitateConform recomandărilor EUCAST:

Cele patru tulpini de control al calității au fost testate în conformitate cu combinațiile recomandate (*E. coli* ATCC® 25922™ (39 de medicamente), *S. aureus* ATCC® 29213™ (26 de medicamente), *P. aeruginosa* ATCC® 27853™ (15 medicamente), *E. faecalis* ATCC® 29212™ (11 medicamente)).³

98% dintre cele 91 de combinații testate au indicat un rezultat acceptabil.

Conform recomandărilor CLSI:

Cele patru tulpini de control al calității au fost testate în conformitate cu combinațiile recomandate pentru următoarele antibiotice (*E. coli* ATCC® 25922™ (46 de medicamente), *S. aureus* ATCC® 25923™ (47 de medicamente), *P. aeruginosa* ATCC® 27853™ (25 de medicamente), *E. coli* ATCC® 35218™ (7 medicamente)):

Amikacină	Imipenem
Amoxicilină + Acid clavulanic	Kanamycină
Ampicilină	Levofloxacină
Ampicilină + Sulbactam	Linezolid
Azitromicină	Mecilinam
Aztreonam	Meropenem
Benzilpenicilină	Minociclină
Cefadroxil	Moxifloxacină
Cefalexin	Mupirocină
Cefepimă	Acid nalidixic
Cefiximă	Netilmicină
Cefotaximă	Nitrofurantoină
Cefoxitină	Norfloxacină
Cefpodoximă	Ofloxacină
Ceftazidimă	Penicilină
Ceftibutenă	Piperacilină
Ceftriaxonă	Piperacilină + Tazobactamă
Cefuroximă	Polimixină B
Cefalotină	Quinupristină/Dalfopristină
Cloramfenicol	Rifampicină
Ciprofloxacina	Teicoplanină
Claritromicină	Telitromicină
Clindamicină	Tetraciclină
Colistină	Ticarcilină
Doripenem	Ticarcilină + Acid clavulanic
Doxiciclină	Tigeciclină
Ertapenem	Tobramicină
Eritromicină	Trimetoprim
Fosfomicină	Trimetoprim + Sulfametoxazol
Acid fusidic	Vancomicină
Gentamicină	

98% dintre cele 125 de combinații testate au indicat un rezultat acceptabil.

Determinarea CMI prin utilizarea metodei ETEST®Tulpini pentru Controlul de Calitate

Cele șase tulpini de control al calității au fost testate în conformitate cu combinațiile recomandate pentru următoarele antibiotice (*E. coli* ATCC® 25922™ (58 de medicamente), *S. aureus* ATCC® 29213™ (58 de medicamente), *P. aeruginosa*

ATCC® 27853™ (34 de medicamente), *E. faecalis* ATCC®29212™ (33 de medicamente), *E. coli* ATCC® 35218™ (8 medicamente), *K. pneumoniae* ATCC® 700603™ (5 medicamente)):

Amikacină	ESBL Cefotaximă
Amoxicilină	ESBL Ceftazidimă
Amoxicilină + Acid clavulanic	Fosfomicină
Ampicilină	Acid fusidic
Ampicilină + Sulbactam	Gatifloxacină
Azitromicină	Gentamicină 1024
Aztreonam	Gentamicină 256
Bacitracină	Imipenem
Benzilpenicilină 256	Kanamicină
Benzilpenicilină 32	Levofloxacină
Cefaclor	Linezolid
Cefepimă	MBL Imipenem
Cefiximă	MBL Meropenem
Cefoperazonă + Sulbactam	Mecilinam
Cefotaximă 256	Meropenem
Cefotaximă 32	Minociclină
Cefotetan	Moxifloxacină
Cefoxitină	Mupirocină
Cefpirom	Acid nalidixic
Cefpodoximă	Netilmicină
Ceftarolină	Nitrofurantoină
Ceftazidimă	Norfloxacină
Ceftizoximă	Ofloxacină
Ceftriaxonă 256	Piperacilină
Ceftriaxonă 32	Piperacilină + Tazobactamă
Cefuroximă	Polimixină B
Cefalotină	Quinupristină/Dalfopristină
Cloramfenicol	Rifampicină
Ciprofloxacina	Spectinomycină
Claritromicină	Streptomicină
Clindamicină	Sulfametoxazol
Colistină	Teicoplanină
Daptomicină	Tetraciclină
Doripenem	Ticarcilină + Acid clavulanic
Doxiciclină	Tigeciclină
Enrofloxacină	Tobramicină
Ertapenem	Trimetroprim
Eritromicină	Trimetoprim + Sulfametoxazol
ESBL Cefepimă	Vancomicină

99,48% dintre cele 196 de combinații testate au indicat un rezultat acceptabil.

Reproductibilitate-repetabilitate (precizie)

S-a utilizat un panou de șapte izolate bine caracterizate: *Staphylococcus aureus* (3), *Pseudomonas aeruginosa* (1), *Enterococcus faecalis* (1), *Escherichia coli* (2). Precizia a fost determinată pentru agarul Mueller Hinton E (MHE) pentru următoarele două aplicații:

- Testarea sensibilității la agenți antimicrobieni prin metoda difuzimetrică cu discuri (AST).
- Determinarea concentrațiilor minime inhibitorii (CMI) utilizând metoda ETEST®.

Testarea repetabilității a fost efectuată cu un panou de tulpini bine caracterizate. Fiecare tulpină a fost testată de mai multe ori pe un lot. O placă cu agar MHE a fost inoculată pentru fiecare tulpină în parte. Rezultatele obținute după 24 de ore de incubare sunt descrise mai jos:

- MHE ref. 413822 (90 mm): 4 teste pentru fiecare tulpină.
 - Metoda difuzimetrică cu discuri: 7 tulpini testate, 95% rezultate repetabile.
 - CMI definită utilizând metoda ETEST®: 6 tulpini testate, 96,41% rezultate repetabile.
- MHE ref. 413825 (120×120 mm): 5 teste pentru fiecare tulpină.
 - Metoda difuzimetrică cu discuri: 6 tulpini testate, 94,58% rezultate repetabile.

Testarea reproductibilității a fost efectuată cu un panou de tulpini bine caracterizate. Fiecare tulpină a fost testată o singură dată pe trei loturi. O placă cu agar MHE a fost inoculată pentru fiecare tulpină în parte. Rezultatele obținute după 24 de ore de incubare sunt descrise mai jos:

- MHE ref. 413822 (90 mm):
 - Metoda difuzimetrică cu discuri: 7 tulpini testate, 94,88% rezultate repetabile.
 - CMI definită utilizând metoda ETEST®: 6 tulpini testate, 96,52% rezultate repetabile.
- MHE ref. 413825 (120×120 mm):
 - Metoda difuzimetrică cu discuri: 5 tulpini testate, 100% rezultate repetabile.
 - CMI definită utilizând metoda ETEST®: 6 tulpini testate, 98,36% rezultate repetabile.

Acuratețe

Acuratețea rezultă din combinarea performanțelor de precizie și de veridicitate. Având în vedere că veridicitatea este de 98% pentru metoda difuzimetrică cu discuri și de 99,48% pentru testarea ETEST®, iar precizia (reproductibilitatea și repetabilitatea) este cuprinsă între 94,58 și 100%, incluzând toate formatele și metodele ETEST® și difuzimetrice cu discuri, atunci se demonstrează acuratețea.

Îndepărtarea deșeurilor

Reactivii neutilizați pot fi considerați ca fiind deșeuri nepericuloase și pot fi îndepărtați ca atare.












Eliminați reactivii utilizați, precum și orice alte materiale de unică folosință contaminate respectând procedurile pentru produse infecțioase sau potențial infecțioase.

Este responsabilitatea fiecărui laborator de a manipula deșeurile și scurgerile produse conform tipului și gradului de pericolozitate al acestora și de a le trata și elimina (sau de a dispune tratarea și eliminarea acestora) în conformitate cu orice reglementări aplicabile.

Bibliografie

1. EUCAST Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – version 2.1, February 2012 (Metoda difuzimetrică EUCAST pentru testarea sensibilității la agenți antimicrobieni – versiunea 2.1, Februarie 2012) (www.eucast.org).
2. EUCAST Disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing – Reading guide – version 2.0, May 2012 (Metoda difuzimetrică EUCAST pentru testarea sensibilității la agenți antimicrobieni – Ghid de citire – versiunea 2.0, Mai 2012) (www.eucast.org).
3. EUCAST Routine internal quality control as recommended by EUCAST – version 3.1, February 2013 (Controlul calității intern de rutină EUCAST conform recomandărilor EUCAST – versiunea 3.1, Februarie 2013) (www.eucast.org).
4. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters – version 3.1, February 2013 (Tabele cu valori critice EUCAST pentru interpretarea valorilor CMI și a diametrelor zonelor – versiunea 3.1, Februarie 2013) (www.eucast.org).
5. CLSI Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing – M100-S23 – January 2013 (Standarde de performanță CLSI pentru testarea sensibilității la agenți antimicrobieni – M100-S23 – Ianuarie 2013).
6. CLSI Performance Standards for antimicrobial disks susceptibility tests – M02-A11 – 2012 (Standarde de performanță CLSI pentru testarea sensibilității la agenți antimicrobieni prin metoda cu discuri – M02-A11 – 2012).
7. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. MURRAY P.R., ZEITINGER J.R. – Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests – *J. Clin. Microbiol.* – 1983 Nov; 18(5): 1269–1271.
8. Statement - NA - 413822 - 413824 - 413825 - Certificate of Compatibility.pdf - <http://www.biomerieux.com>.

Index al simbolurilor

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>In Vitro</i>
	Producător
	Limitare de temperatura
	A se utiliza pana la data de
	Cod lot
	A se consulta instrucțiunile de utilizare
	Conținut suficient pentru <n> teste
	Certificat de control de calitate
	A nu se refolosi
	Data fabricației

Garanție limitată

bioMérieux garantează performanța produsului pentru destinația de utilizare menționată cu condiția ca toate procedurile referitoare la utilizare, depozitare și manipulare, durata de depozitare (dacă este cazul) și măsuri de precauție să fie urmate cu strictețe, conform descrierii din Instrucțiunile de utilizare.

Cu excepția celor expres menționate mai sus, bioMérieux declină prin prezenta orice garanții, incluzând orice garanții implicite de vandabilitate și compatibilitate pentru un anumit scop sau o anumită utilizare, și declină orice responsabilitate directă, indirectă sau pe cale de consecință, pentru orice utilizare a reactivului, aplicației software, a instrumentului și consumabilelor („Sistemul”) diferită de cea exprimată în Instrucțiunile de utilizare.

Ambalare

Medii gata de utilizare

De unică folosință. A nu se refolosi.

REF	Unități/Pachet	Dimensiunea plăcii	Denumirea prescurtată (imprimat pe fiecare placă)
413822	2x10 plăci	90 mm	MHE
413824	10x10 plăci	90 mm	MHE
413825	4x5 plăci	120 x 120 mm	MHE

1 insert tehnic, care poate fi descărcat de pe www.biomerieux.com.

Istoricul reviziilor

Categoriile tipurilor de modificări

N/A

Neaplicabil (Prima publicare)

Corectură	Corectarea anomaliilor de documentare
Modificare tehnică	Completări, revizuirii și/sau îndepărtarea de informații legate de produs
Administrativă	Implementarea de schimbări non-tehnice importante pentru utilizator

Notă: Modificările minore de tipar, gramaticale sau de format nu sunt incluse în istoricul reviziilor.

Data versiunii	Cod componentă	Tipul modificării	Sumarul modificărilor
2018/03	20121E	Administrativă	Conținutul kitului (ref. 413823 eliminată)
2019-09	043254-03	Administrativă	Modificări de formatare și text. Secțiuni actualizate: Destinația utilizării / Explicație și principiu / Reactivi și materiale necesare, dar nefurnizate / Atenționări și măsuri de precauție / Specimene / Procedura / Rezultatele și interpretarea / Performanța / Ambalare
		Modificare tehnică	Rezultatele și interpretarea / Limitările metodei / Bibliografie
2022-04	043254-04	Modificare tehnică	Explicație și principiu / Procedura / Rezultatele și interpretarea / Controlul de calitate / Index al simbolurilor / Ambalare
2024-05	043254-05	Administrativă	Condiții de păstrare
		Modificare tehnică	Compoziția mediului / Condiții de păstrare / Procedura / Limitările metodei / Performanță analitică / Bibliografie

BIOMÉRIEUX, logo-ul BIOMÉRIEUX și ETEST sunt mărci comerciale utilizate, înregistrate și/sau în curs de înregistrare, care aparțin bioMérieux sau uneia dintre filialele sau companiile sale.

Marca și denumirea comercială ATCC și orice numere de catalog ATCC sunt mărci comerciale ale American Type Culture Collection.

CLSI este o marcă comercială aparținând Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Oricare altă denumire sau marcă comercială aparține proprietarului respectiv.

Pentru utilizatorii din Uniunea Europeană (Regulamentul (UE) 2017/746) și din țările cu cerințe similare: În cazul apariției unui incident grav în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, vă rugăm să raportați acest incident producătorului și/sau reprezentantului autorizat al acestuia, precum și autorității dvs. naționale.