BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood •
BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood (150 mm) •
BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep blood, Square

**(BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв •
BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв (150 mm) •
BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв, квадрат)**

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood (Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв), наличен в чашки с различна форма и размери на опаковка, се препоръчва за проверка на чувствителността на *Streptococcus pneumoniae* и други стрептококи, стандартизирани от Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), чрез дифузия с дисков метод. [1]

ПРИНЦИПИ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Микробиологичен метод.
Процедурата Bauer-Kirby се основава на дифузията през агар гел на антимикробни вещества, които са импрегнирани върху хартиени дискове. [2] При тестовата процедура върху цялата повърхност на средата се нанася стандартизирана суспензия на организма. След това хартиените дискове, импрегнирани с посочени количества антибиотик или други антимикробни агенти, се поставят върху повърхността на средата, чашката се инкубира и се измерват зоните на инхибиране около всеки диск. CLSI е съставил стандарт за качеството на работа за процедурата Bauer-Kirby и за подробности трябва да се обръщате за справка към този документ. [1] Разработени са и други национални стандарти за проверка на антимикробна чувствителност съгласно процедурата Bauer-Kirby. Посочените в тези стандарти плътност на инокулата, метод на инокулиране, размери на крайните зони и начин на интерпретиране могат да се различават от тези в стандарта на CLSI. Докато липсват общи европейски стандарти за проверка на чувствителността е необходимо спазването на местните национални стандарти, ако Указанията на CLSI не са приложими.
Мюлер Хинтън агар без добавки, въпреки че е подходящ за проверка на чувствителността на бързо растящи аеробни патогени, не е подходящ за повечето чувствителни организми, като *Streptococcus pneumoniae*. Документът M2 на CLSI препоръчва използване на Мюлер Хинтън агар с добавка на 5% дефибринирана овнешка кръв и описва подробно контролните процедури и критериите за интерпретиране, които се прилагат към *S. pneumoniae* и други стрептококи. [1]

РЕАГЕНТИ

BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв

Формула* на литър пречистена вода

Екстракт от говеждо месо	2,0 g
Киселинен хидролизат на казеин	17,5
Нишесте	1,5
Агар	17,0 g
Овнешка кръв, дефибринирана	5%

pH 7,3 ± 0,2
*Пригоден и/или допълнен според изискванията за удовлетворяване на критериите за ефективно функциониране.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

За употреба при ин-витро диагностика IVD .

Само за професионална употреба.
Не използвайте чашки, ако те съдържат признаци на микробно замърсяване, обезцветеност, изсушаване, пукнатини или други признаци на увреждане. Прекаленото сбръчкване на тази среда в резултат на изсушаване може да доведе до фалшиви резултати за чувствителността.
За справка относно асептичните манипулационни процедури, биологичните опасности и изхвърлянето на използвания продукт вижте документа **ОБЩИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА**.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ

След получаване съхранявайте чашките на тъмно, при температура от 2 до 8° C, в оригиналната им маншетна опаковка до момента на непосредствената им употреба. Не допускайте замразяване и прегряване. Чашките могат да бъдат инокулирани до изтичане на срока на годност (виж етикета на опаковката) и инкубирани според препоръчваните инкубационни периоди.
Отворените комплекти от 10 чашки могат да се използват в продължение на една седмица при съхранение на чисто място при температура от 2 до 8° C.

ПОТРЕБИТЕЛСКИ КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

За процедурите по потребителски качествен контрол трябва да се прилагат съответните стандарти на CLSI [1] или, ако са приложими, националните стандарти. Принципно е необходимо да се спазват посочените по-долу в **Методика за тестуване** процедури, в това число контролния щам, *S. pneumoniae* ATCC™ 49619, като антимикробните дискове, използвани обикновено от лабораторията, трябва да се проверяват за правилното им функциониране поне два пъти седмично.
Точните диаметри на зоните могат да бъдат намерени в Таблица 3A на документа M100 на CLSI, който е включен в документ M2 на CLSI. [1]
Поява върху неинокулирана среда: червени (цвят на кръв), непрозрачни.

ПРОЦЕДУРА

Предоставяни материали

BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв (доставян в чашки с няколко различни форми; виж **Опаковка/Съдържание**). Микробиологично проверени.

Непредоставяни материали

1. Инокулиран бульон в количества от 5 mL, като Мюлер Хинтон II бульон (BBL Кат. № 4397701, тръба 16 x 102 mm) или 0,9% солев разтвор, за приготвяне на стандартен инокулат.
2. Бариев сулфат със стандартно сравнение (0,5 mL от 0,048 M $BaCl_2$ [1,175% w/v $BaCl_2 2H_2O$] до 99,5 mL от 0,18 M [0,36 N] H_2SO_4 [1% v/v]).
3. Фотометрично устройство за регулиране мътността на инокулатната суспензия до еквивалентна на стандарта 0,5 McFarland.
4. Като алтернатива на посочените материали (1-3), може да се използва **BD Prompt Инокулационна система** (волуметрично устройство за приготвяне на инокулат).[1,3]
5. Контролна култура - *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.
1. Хартиени дискове, импрегнирани с посочени количества антимикробни агенти, като дискове **BD Sensi-Disc** за проверка на чувствителността.
6. Диспенсер за дискове, като диспенсер **BD Sensi-Disc** със самозапълване на 6-, 8- или 12-места.
7. Устройство за измерване или интерпретиране на диаметъра на зоните, като калипер или рулетка.
8. Инкубатор, произвеждащ съдържаща 5% CO_2 атмосфера, или друго устройство, произвеждащо атмосфера с подобно съдържание на CO_2.
9. Допълнителна културална среда, реагенти и лабораторно оборудване според нуждите.

Видове материали
Този продукт се използва само за проверка на чувствителността на чисти култури и не е предназначен за непосредствено използване на клинични материали (вижте също **РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА**).

Методика на тестуване
При тестуване на *S. pneumoniae* трябва да се използва метода за директна суспензия на колония.[1] Спазвайте асептичните указания.

1. Необходимо е да се гарантира наличието на чиста, прясна (=нощна) култура от неселективна среда с кръвен агар.
2. Отложете растеж в бульон от типа Мюлер Хинтън II бульон или стерилен 0,9% солев разтвор. Регулирайте мътността така, че да е равна на стандарта за бариев сулфат (стандарт 0,5 McFarland). Мътността на стандартния и тестуван инокулат трябва да се сравнява чрез поставяне на двете пробирки пред бял фон с тънки черни линии, или да се използва фотометрично устройство.
3. За рутинни тестови процедури са подходящи алтернативни методи за приготвяне на инокулат, които включват устройства, позволяващи директно стандартизиране на посявка без регулиране на мътността, като **BD Prompt Инокулационна система**.
4. В рамките на 15 мин след регулиране на мътността на инокулата, потопете стерилен тампон в правилно разтворен инокулат и го завъртете няколко пъти в посока срещу горната вътрешна стена на пробирката, за да изтискате излишната течност.
5. Инокулирайте върху **BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв** чрез трикратно посяване на цялата повърхност с агар в чашката, завъртайки чашката на 60° между отделните посевки, за достигане на равна инокулация.
6. Свалете капака на чашката и дръжте чашката при стайна температура в продължение на поне 3 минути, но не повече от 15 минути, за да може повърхностната влажност да се абсорбира преди поставянето на импрегнираните с лекарство дискове. Използвайте не повече от девет диска за 150 mm чашка, или четири диска за 90 и 100 mm чашка. За пеницилинов тест на *S. pneumoniae* използвайте 1 µg оксацилинов диск.[4]
7. Инкубирайте в продължение на 20 до 24 часа при температура 35°C в съдържаща 5% CO_2 атмосфера.

Резултати
След инкубация трябва да бъде налице видим сливащ се растеж. Ако са израснали само изолирани колонии, инокулатът е бил прекалено тънък и теста трябва да бъде повторен. Измерете диаметъра на зоните с пълно инхибиране (видими с невъоръжено око), включително диаметъра на диска, до най-близкия цял милиметър, използвайки плъзгащи се калипери, или рулетка, от горната част на чашката със свален капак.[5] Крайната точка трябва да е участъка, не показващ видим с невъоръжено око забележим растеж. Незначителният растеж на тънки колонии, които трудно могат да бъдат открити близо до края на явната зона на инхибиране, се пренебрегва.
При употреба на **BD Мюлер Хинтън агар с 5% овнешка кръв** трябва да се измерва зоната на инхибиране на растежа, а не зоната на инхибиране на хемолиза.

Изчисляване и интерпретиране на резултати
Диаметъра на зоните трябва да бъде сравнен с посочените в Таблица 2G за *S. pneumoniae* и 2H за другите стрептококи резултати в документа M100 (M2) на CLSI, който предоставя критерии за интерпретиране.[1] Получените резултати след това могат да бъдат докладвани като резистентни, междинни или чувствителни. Придържайте се към специален критерий за интерпретиране при изолиране на *S. Pneumoniae* с диаметри на оксацилиновата зона ≤ 19 mm, споменат в този стандарт (вижте също **РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА**).

Забележка: Информационни допълнения към документа M2 на CLSI, или ревизирани версии, съдържащи ревизирани таблици на антимикробните дискове и стандарти за интерпретиране, се публикуват периодично. Необходимо е да се консултирате с най-новите от тях относно текущите препоръки. Пълен комплект от стандарта и информационните допълнения може да бъде поръчан

от Clinical and Laboratory Standards Institute Approved Standard: M2. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898, USA. Телефон: ++1-610-688-1100. **www.clsi.org**

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

Тестът за чувствителност чрез дискова дифузия е предназначен за употреба само на чисти култури. Преди провеждането на теста се препоръчва да се извърши презумптивно идентифициране на културата с Грам оцветител.[1]
Тази среда се използва за проверка на чувствителността на *S. pneumoniae* и други стрептококи към избрани антимикробни агенти.[1,2,5] Имайте предвид, че не съществува надежден критерий за тест чрез дискова дифузия на чувствителността на *S. pneumoniae* към амоксицилин, ампицилин, цефепим, цефотаксим, цефтриаксон, цефуроксим, имипенем и меропенем. Ин витро активността на тези антимикробни агенти се определя най-добре с помощта на MIC метод.[1]
За определяне на чувствителността на *S. pneumoniae* към пеницилин трябва да се използва диск с оксацилин. Изолатите на *S. pneumoniae* с диаметри на зоната ≥ 20 mm са чувствителни (MIC ≤ 0.06 mg/mL) към пеницилин. Поради появата на зони ≤ 19 mm при изследване на резистентни към пеницилин, междинни и безспорно чувствителни щамове чрез диск с оксацилин трябва да се определя MIC пеницилин, меропенем и цефотаксим или цефтриаксон за всички изолати на *S. pneumoniae* с оксацилинови зони ≤ 19 mm.[1]
При различни от *S. pneumoniae* стрептококи не се препоръчва тест с оксацилин за определяне на чувствителността към пеницилин. За бета-хемолитични стрептококи използвайте диск с пеницилин или ампицилин. За групата стрептококи *viridans* тестът за чувствителност с дискове с пеницилин и оксацилин не е надежден; тяхната чувствителност трябва да се определя чрез MIC тестуване.

Антимикробна проверка на чувствителността чрез дискова дифузия с използване на *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 е провеждана вътрешно с цефаклор, цефпрозил, хлорамфеникол, еритромицин, офлоксацин, тетрациклин, триметоприм / сулфаметоксазол и ванкомицин. Следвайки описаните в M2-A5 процедури за тестуване, за период от 10 тестови дни са проведени двадесет теста с качествен контролен щам и осем антимикробни диска. За всички осем антимикробни агента, 100% (160/160) от размерите на зоните попадат в очакваните диапазони на размери, публикувани в M2-A5 и Таблица 3C на документа M100-S6 на NCCLS.[6,7] Стандартното отклонение за тетрациклин бе по-малко от 1 mm, а за всички други антимикроби – по-малко от 2 mm.[8]
Провеждани са изследвания на репродуктивността (3 пъти дневно за 3 дни) в два полеви обекта с изброените по-горе антимикробни агенти върху *S. pneumoniae* ATCC 49619 и девет допълнителни добре характеризирани щамове на *S. pneumoniae.* За всеки антимикробен агент се спазваха стандартите за интерпретиране на диаметъра на зоните от таблица 2C на документа M2-A5 на NCCLS.[6,7] Тестването с хлорамфеникол, еритромицин, офлоксацин, тетрациклин и ванкомицин показа над 95% категорийно съвпадане с референтния метод на NCCLS. Тестуването с триметоприм / сулфаметоксазол показва 90% категорийно съвпадение с референтния метод на NCCLS. Репродуктивността за цефаклор и цефпрозил не може да бъде определена поради липса на стандарти за интерпретиране за тези два антимикробни агента. Въз основа на посочените по-горе изследвания, използването на цефаклор, цефпрозил или триметоприм/сулфаметоксазол в тази среда при тестуване на *S. pneumoniae* не се препоръчва. Допълнително, литературните справки сочат голямо количество грешки в интерпретирането при тест с дискова дифузия на триметоприм/сулфаметоксазол в чашки с Мюлер Хинтън агар с овнешка кръв.[9]

При някои комбинации от организъм-антимикробни агенти, зоната на инхибиране може да няма ясно очертана граница, което може да доведе до неправилна интерпретация. Върху тестовете за чувствителност с дискова дифузия оказват влияние различни фактори. Те включват средата, дълбочината на агар, ефективността на диска, концентрацията на инокулат, възрастта на инокулата и pH.[2]

Неправилната концентрация на инокулат може да произведе неправилни резултати. Ако инокулатът е прекалено тежък, зоните на инхибиране могат да са прекалено малки и обратно, ако инокулатът е много лек, те могат да са прекалено големи и трудни за измерване.
Неправилното съхранение на антимикробни дискове може да доведе до отслабване на ефективността им и фалшиви резистентни резултати.
Ин витро чувствителността на организъм към специфичен антимикробен агент не означава задължително, че агентът ще бъде ефективен ин виво. За справка относно интерпретиране на резултатите вижте съответните отпратки.[2,10]
Не използвайте тази среда за проверка на чувствителността на бактерии, различни от *S. pneumoniae* и бета-хемолитични стрептококи.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

1. Clinical and Laboratory Standards Institute Approved Standard: M2. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. CLSI, Wayne, PA, USA.*Search for latest version at* **www.clsi.org**
2. Washington, J.A., and G.L. Woods. 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.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. 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.
4. Swenson, J.M., B.C. Hill, and C. Thornsberry. 1986. Screening pneumococci for penicillin resistance. J. Clin. Microbiol. 24:749-752.
5. Hindler, J.F., and J.M. Swenson. 2003. Susceptibility test methods: fastidious bacteria. In: In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993. Approved Standard: M2-A5. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 5th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1995. Sixth informational supplement: M100-S6. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
8. Файлови данни на Becton Dickinson Microbiology Systems.
9. Jorgensen, J.J. 1994. Detection of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae* by use of standardized susceptibility testing methods and recently developed interpretive criteria. Clin. Microbiol. Newsl. 16(13)97-104.
10. Neumann, M.A., D.F. Sahm, C. Thornsberry, J.E. McGowan, Jr. 1991. 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.

ОПАКОВКА/СЪДЪРЖАНИЕ

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood (90 mm **Stacker** чашки**).**

Кат. № 254030	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 20
Кат. № 254080	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 120

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood (150 mm)

Кат. № 255080	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 20

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood, квадрат (120 x 120 mm)

Кат. № 254517	Готова за употреба среда в чашка, пакет от 20

ДОПЪЛНИТЕЛНА ИНФОРМАЦИЯ

За допълнителна информация моля свържете се с местния представител на BD.

BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

Prompt is a trademark of 3M.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2009 BD