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

TILSIGTET BRUG

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood, som leveres i forskellige pladeformater og pakkestørrelser, anbefales til følsomhedstestning med skivediffusion af *Streptococcus pneumoniae* og andre streptokokker, som det er standardiseret af Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).[1]

PROCEDURENS PRINCIPPER OG FORKLARING

Mikrobiologisk metode.
Bauer-Kirby-proceduren er baseret på diffusion gennem en agargel af antimikrobielle substanser, som imprægneres på papirskiver.[2] I denne testprocedure pensles en standardiseret suspension af organismen over hele mediets overflade. Papirskiver, imprægneret med specifikke mængder antibiotiske eller andre antimikrobielle stoffer, anbringes dernæst på mediets overflade, pladen inkuberes, og hæmningszonerne om hver skive måles. CLSI har skrevet en præstationsstandard for Bauer-Kirby-proceduren, og dette dokument bør konsulteres for yderligere oplysninger.[1] Andre nationale standarder er udviklet for antimikrobiel følsomhedstestning ifølge Bauer-Kirby-proceduren. I de standarder kan inokulatets densitet, inokuleringsmetoden, zonestørrelserne og tolkningsmetoden afvige fra CLSI-standarden. Selvom der findes almindelige europæiske standarder for følsomhedstestning, bør lokale, nationale standarder konsulteres, hvis CLSI-retningslinjerne ikke kræves anvendt.
Mueller Hinton agar uden supplement er, til trods for tilstrækkelig følsomhedstestning af hurtigt voksende aerobe patogener, ikke tilstrækkelig til mere kræsne organismer såsom *Streptococcus pneumoniae*. CLSI Document M2 anbefaler Mueller Hinton Agar suppleret med 5 % defibrineret fåreblod og giver detaljerede oplysninger om både kvalitetskontrolprocedurerne og tolkningskriterierne, der skal bruges til *S. pneumoniae* og andre streptokokker.[1]

REAGENSER

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood

Formel* pr. liter renset vand

Oksekødesekstrakt	2,0 g
Sur hydrolysat af kasein	17,5
Stivelse	1,5
Agar	17,0 g
Fåreblod, defibrineret	5 %

pH 7,3 ± 0,2
* Justeret og/eller suppleret som påkrævet for at leve op til funktionskriterier.

FORHOLDSREGLER

Til *in vitro* diagnostik. IVD . Kun til professionel brug.
Pladerne må ikke anvendes, hvis de viser tegn på mikrobiel kontaminering, misfarvning, udtørring, revnedannelse eller andre tegn på nedbrydning. Overdreven skrumpning af dette medium på grund af udtørring kan føre til falske følsomhedstestresultater.
Læs dokumentet **GENEREL BRUGSANVISNING** for procedurer om aseptisk håndtering, biologisk risiko og bortskaffelse af det brugte produkt.

OPBEVARING OG HOLDBARHED

Pladerne opbevares efter modtagelse i mørke ved 2 – 8 °C i deres originale hylsterindpakning, lige indtil de skal bruges. Undgå nedfrysning og overophedning. Pladerne kan inokuleres op til udløbsdatoen (se etiketten på pakken) og inkuberes i de anbefalede inkubationstider.
Plader fra åbnede stabler med 10 plader kan bruges i en uge, når de opbevares i et rent område ved 2 – 8 °C.

BRUGERKVALITETSKONTROL

Se CLSI[1] eller, hvis det er relevant, nationale standarder for oplysninger om brugerkvalitetskontrol. I princippet skal procedurerne, der er beskrevet nedenfor i afsnittet **Testprocedure**, følges, inklusive for kontrolstammen *S. pneumoniae* ATCC 49619, og de antimikrobielle skiver, der normalt anvendes i laboratoriet, skal testes mindst to gange om ugen for korrekt præstation.
De korrekte zonediametre findes i Tabel 3A af CLSI Document M100, som findes i CLSI Document M2. [1]
Ikke-inokuleret mediums udseende: rød (blodfarve), opak.

PROCEDURE

Vedlagte materialer

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood (leveres i forskellige pladeformater, se **Emballering/udvalg**). Mikrobiologisk kontrolleret.

Materialer, der ikke er vedlagt

1. Inokulatbouillon i mængder på 5 mL, såsom Mueller Hinton II Broth (BBL kat. nr. 4397701, 16 x 102 mm tube) eller 0,9 % saltvand, til klargøring af standardinokulat.
2. Bariumsulfat-sammenligningsstandard (0,5 mL af 0,048 M $BaCl_2$ [1,175 % w/v $BaCl_2 2H_2O$] til 99,5 mL af 0,18 M [0,36 N] H_2SO_4 [1 % v/v]).
3. Et fotometrisk apparat til justering af inokulatopløsningens klarhed svarende til en McFarland 0,5 standard.
4. Som alternativ til ovenstående materialer (1-3) kan **BD Prompt Inoculation System** (volumetrisk inokulat-klargøringsudstyr) anvendes.[1,3]
5. Kontrolkultur - *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619.
6. Papirskiver imprægneret med specifikke mængder antimikrobielle stoffer, såsom **BD Sensi-Disc** skiver til følsomhedstest.
7. Skivedispenseringsudstyr, såsom **BD Sensi-Disc** Self-Tamping 6-, 8- eller 12-Place Dispenser.
8. Anordning til at måle eller tolke zonediametre, såsom en passer eller lineal.
9. En inkubator, der producerer en atmosfære indeholdende 5 % CO_2, eller et andet apparat der producerer en lignende CO_2-beriget atmosfære.
10. Hjælpedyrkningsmedier, reagenser og laboratorieudstyr som påkrævet.

Prøvetyper

Dette produkt anvendes kun til følsomhedstestning af rene kulturer og bør ikke bruges direkte med kliniske prøver (se endvidere **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

Testprocedure

Metoden med direkte kolonisuspension skal bruges ved analyse af *S. pneumoniae*.[1] Anvend aseptiske teknikker.

1. Sørg for, at en ren, frisk (= natten over) kultur fra et ikke-selektivt blodagarmedium er tilgængelig.
2. Overfør væksten til bouillon, såsom Mueller Hinton II Broth eller sterilt 0,9 % saltvand. Justér klarheden, så den svarer til bariumsulfatstandarden (McFarland 0,5 standard). Standardens og testinokulatets klarhed sammenlignes ved at holde begge rør op foran en hvid baggrund med tynde, sorte linjer, eller der kan benyttes et fotometrisk apparat.

3. Alternative metoder til klargøring af inokulatet anvender anordninger, der muliggør direkte standardisering af inokulatet uden justering af klarheden, såsom **BD Prompt Inoculation System**. Disse anordninger er fundet at være acceptable til rutinemæssige analyser.[1,3]
4. Højst 15 minutter efter justering af inokulatets klarhed, stikkes en steril vatpind ned i det korrekt fortyndede inokulat og drejes flere gange kraftigt rundt mod glassets øvre inderside for at presse overskydende væske ud.
5. Inokulér på **BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood** ved at udstryge hele agaroverfladen på pladen tre gange, idet pladen drejes 60° mellem strygninger for at opnå jævn inokulering.
6. Anbring låget på pladen igen og hold pladen i stuetemperatur i mindst 3 min., men højst i 15 min., så overfladefugt kan absorberes, inden de imprægnerede skiver påføres. Anvend højst ni skiver pr. 150 mm plade, eller fire skiver pr. 90 og 100 mm plade. For penicillintestning af *S. pneumoniae*, anvendes en skive med 1 µg oxacillin.[4]
7. Inkubér i 20-24 timer ved 35 °C i en atmosfære med 5 % CO_2.

Resultater
Efter inkubation bør konfluent vækst være synlig. Hvis kun de isolerede kolonier vokser, var inokulatet for tyndt, og testen skal gentages.
Mål zonediametrene for fuldstændig hæmning (som vurderet med det blotte øje), inklusive diameteren på skiverne, til nærmeste hele millimeter vha. en passer eller en lineal, fra toppen af pladen med fjernet låg.[5] Endepunktet skal være det område, der ikke viser vækst, der kan ses med det blotte øje. Se bort fra svag vækst af meget små kolonier, der kun vanskeligt kan ses nær kanten af den synlige hæmningszone.
Med **BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood** skal hæmningszonen for vækst måles og ikke hæmningszonen for hæmolyse.

Beregning og tolkning af resultater
Zonediametrene bør sammenlignes med dem i Tabel 2G for *S. pneumoniae* og 2H for andre streptokokker i CLSI Document M100 (M2), som oplyser om tolkningskriterier. Resultaterne kan så rapporteres som resistente, intermediære eller følsomme. Anvend specielle tolkningskriterier for isolater af *S. pneumoniae* med oxacillinzonediametre på ≤ 19 mm, der er nævnt i denne standard (se også **FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER**).

Bemærk: Informative supplementer til CLSI Document M2 eller reviderede versioner, der indeholder reviderede tabeller over antimikrobielle skiver og tolkningsstandarder, udgives jævnligt. De nyeste tabeller bør konsulteres for aktuelle anbefalinger. De komplette standard- og informative supplementer kan bestilles fra Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA. Telefon: +1-610-688-1100.

FUNKTIONSDATA OG PROCEDURENS BEGRÆNSNINGER
Følsomhedstesten med skivediffusion er designet til brug med rene kulturer alene. En Gram-farvning og en formodet identifikation af isolatet anbefales, inden følsomhedstesten forberedes.[1]
Dette medium anvendes til følsomhedstestning af *S. pneumoniae* og andre streptokokker overfor udvalgte antimikrobielle emner.[1,2,5] Bemærk, at med amoxycillin, ampicillin, cefepim, cefotaxim, ceftriaxon, cefuroxim, imipenem og meropenem eksisterer der ingen pålidelige skivediffusionstestkriterier for *S. pneumoniae*. Disse antimikrobielle emners *in vitro*-aktivitet bestemmes bedst ved hjælp af en MIC metode.[1]
En oxacillin-skive skal anvendes til bestemmelse af *S. pneumoniaes* følsomhed for penicillin. Isolater af *S. pneumoniae* med oxacillin-zonediametre på ≥ 20 mm er følsomme (MIC ≤ 0,06 mg/mL) overfor penicillin. Da zoner på ≤ 19 mm med oxacillin-screeningsskiven forekommer med penicillin-resistente, -intermediære, og visse -følsomme stammer, skal en MIC-måling af penicillin, meropenem, og cefotaxim eller ceftriaxon bestemmes for alle isolater af *S. pneumoniae* med oxacillin-zoner på ≤ 19 mm.[1]
Oxacillintestning for bestemmelse af følsomhed for penicillin anbefales ikke for andre streptokokker end *S. pneumoniae*. For beta-hæmolytiske streptokokker anvendes en penicillin-

eller ampicillin-skive. For *viridans*gruppe-streptokokker, er penicillin og oxacillin skivediffusionstestning ikke pålidelig. Deres følsomhed skal bestemmes med MIC-testning.[1]

Følsomhedstestning med antimikrobiel skivediffusion af *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 blev udført internt med cefaklor, cefprozil, kloramfenikol, erythromycin, ofloxacin, tetracyclin, trimethoprim/sulfamethoxazol og vancomycin. Efter de testprocedurer, der er beskrevet i M2-A5, blev tyve analyser med kvalitetskontrolstammen og otte antimikrobielle skiver udført over en periode på 10 testdage. For alle otte antimikrober, faldt 100 % (160/160) af zonestørrelsen indenfor det forventede område beskrevet i M2-A5 og Tabel 3C i NCCLS Document M100-S6.[6,7] Standardafvigelsen for tetracyklin var mindre end 1 mm, og for alle andre antimikrober var den mindre end 2 mm.[8]
Undersøgelser af reproducerbarhed (3 gange om dagen i 3 dage) blev foretaget to steder med de samme antimikrober som nævnt ovenfor overfor *S. pneumoniae* ATCC 49619 og ni yderligere velkarakteriserede *S. pneumoniae*-stammer. Tolkningsstandarder for zonediametre fra Tabel 2C i NCCLS Document M2-A5 og Supplement M100-S6 blev fulgt for hver antimikrobe.[6,7] Testning med kloramfenikol, erythromycin, ofloxacin, tetracyklin og vancomycin resulterede i mere end 95 % overensstemmelse i kategori med NCCLS' referencemetode. Testning med trimethoprim/sulfamethoxazol resulterede i mere end 90 % overensstemmelse i kategori med NCCLS' referencemetode. Reproducerbarhed kunne ikke bestemmes for cefaklor og cefprozil på grund af manglende tolkningsstandarder for disse to antimikrober. Baseret på undersøgelserne beskrevet ovenfor, kan det ikke anbefales at bruge cefaklor, ceprozil eller trimethoprim/sulfamethoxazol på dette medium, når *S. pneumoniae* analyseres. Derudover rapporterer referencer i litteraturen om store tolkningsfejl ved skivediffusionstestning med trimethoprim/sulfamethoxazol på Mueller Hinton agarplader med fåreblod.[9]

Med visse kombinationer af organismer og antimikrobielle stoffer har hæmningszonen måske ikke en skarpt afgrænset kant, hvilket kan føre til forkert tolkning.
Forskellige faktorer er blevet identificeret som værende påvirkelige på følsomhedstestning med skivediffusion. Disse indbefatter medium, agardybde, skivestyrke, inokulatkoncentration, inokulatets alder samt pH.[2]
Ukorrekt inokulatkoncentration kan medføre ukorrekte resultater. Hæmningszonerne kan være for små, hvis inokulatet er for kraftigt, og de kan være for store og vanskelige at måle, hvis inokulatet er for tyndt.
Ukorrekt opbevaring af antimikrobielle skiver kan forårsage styrketab og et falskt-resistent resultat.
En organismes *in vitro*-følsomhed for et specifikt antimikrobielt stof betyder ikke nødvendigvis, at stoffet er effektivt *in vivo*. Se referencematerialet for hjælp til tolkning af resultater.[2,10]
Anvend ikke dette medium til følsomhedstestning af andre bakterier end *S. pneumoniae* og beta-hæmolytiske streptokokker.

LITTERATUR

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. Data on file at 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.

EMBALLERING/BESTILLING

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

Kat. nr. 254030	Plademedier klar til brug, 20 plader
Kat. nr. 254080	Plademedier klar til brug, cpu 120

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

Kat. nr. 255080	Plademedier klar til brug, 20 plader

BD Mueller Hinton Agar with 5% Sheep blood, Square (120 x 120 mm)

Kat. nr. 254517	Plademedier klar til brug, 20 plader

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.

Becton Dickinson GmbH
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

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

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD