

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN

Medium dedicated to the confirmation of ESBL-producing Enterobacteriaceae.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Beef Extract	2.0
Acid Hydrolyzed of Casein	17.5
Starch	1.5
Agar	17.0
Cloxacillin	0.25
Final pH 7.3 ± 0.2	

DESCRIPTION

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN is a medium used to increase sensitivity when the confirmation of ESBL-producing Enterobacteriaceae is carried out on isolates with high level expression of AmpC β -lactamases.

ESBLs are enzymes that hydrolyze most penicillins and cephalosporins, inhibited by β -lactamase inhibitors such as clavulanic acid, sulbactam and tazobactam. AmpC-type enzymes hydrolyze penicillins, cephalosporins and monobactam and are poorly inhibited by the classical ESBL inhibitors, especially clavulanic acid.

Phenotypic methods for confirmation of ESBL, such as the combination disc test (CDT), the double-disc synergy test (DDST) test and the ESBL gradient test (Liofilchem® MIC Test Strip ESBL) are based on the inhibition of ESBL activity by clavulanic acid. However, the presence of ESBLs may be masked by an overproduction of AmpC enzyme.

PRINCIPLE

Acid hydrolyzed of casein and meat extract provide amino acids, nitrogen, minerals, vitamins, carbon and other factors which allow the growth of microorganisms. Starch acts as a protective substance against toxic molecules which can be present in the medium. Hydrolysis of starch during sterilization supplies a little amount of glucose which represents a source of energy. Agar is the solidifying agent. Cloxacillin is a good inhibitor of AmpC enzyme.

TECHNIQUE

1. Prepare a standardized suspension of the test organism using either the direct colony suspension or growth method.
2. Dip a sterile cotton swab into the adjusted suspension.
3. Inoculate the surface of the plate by streaking the swab over the entire agar surface.
4. Apply the discs or the strips onto the surface of the inoculated agar plate.
5. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 16-20 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

Combination Disc Test (CDT)

The test is positive if the inhibition zone diameter is ≥ 5 mm larger with clavulanic acid than without.

Double Disc-Synergy Test (DDST)

Positive result is reported when the inhibition zone is increased in the direction the disc containing clavulanic acid.

MIC Test Strip ESBL (MTS-ESBL)

The test is positive if 8-fold reduction is observed in the value of the cephalosporin combined with clavulanic acid compared with the value of the cephalosporin alone or if a phantom zone or deformed ellipse is present

STORAGE

2-8°C away from light, until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is designed for *In vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to the national and local regulations in force.

REFERENCES

1. Bauer et al. (1966) J. Clin. Pathol. 45:493-496.
2. Mueller J.H. and Hinton. (1941) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330-333.
3. Poirel L. et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41:3542-3547.
4. Jacoby G.A. (2009) AmpC β -Lactamases. Clin. Microbiol. Rev. 22(1):161-182.
5. Thomson K.S. (2010) J. Clin. Microbiol. 48:1019-1025.
6. Garrec H. et al (2011) J. Clin. Microbiol. 49(3):1048-57.
7. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, 2013.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN

PRESENTATION

Ready to use plates

STORAGE

2-8°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
11518	20 plates	10 plates in thermally soldered film 2 x 10 plates in cardboard box

pH OF THE MEDIUM

7.3 ± 0.2

USE

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN is a medium used to increase sensitivity when the confirmation of ESBL-producing Enterobacteriaceae is carried out on isolates with high level expression of AmpC β-lactamases

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Amber medium, slightly opalescent

SHELF LIFE

6 months

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Sterility control
7 days at 22 ± 1°C, in aerobiosis
7 days at 36 ± 1°C, in aerobiosis
- Microbiological control
Incubation Conditions: 18-20 hours at 35 ± 2°C

Microorganism		Growth	ESBL phenotype	AmpC phenotype
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 35218	Good	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603	Good	+	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® BAA-1144	Good	+	+

TABLE OF SYMBOLS

 LOT	Batch code	 IVD	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
 REF	Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult instructions for use	 Do not reuse	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN

Pożywka przeznaczona do potwierdzania obecności Enterobacteriaceae wytwarzających ESBL.

SKŁAD	(g/l)
Ekstrakt wołowy	2,0
Kwaśny hydrolizat kazeiny	17,5
Skrobia	1,5
Agar	17,0
Kloksacylina	0,25
Końcowe pH 7,3 ± 0,2	

OPIS

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN to pożywka stosowana w celu zwiększenia czułości w przypadku potwierdzenia obecności Enterobacteriaceae wytwarzających ESBL w izolatach wykazujących wysoki poziom ekspresji β-laktamaz AmpC.

ESBL to enzymy, które hydrolizują większość penicylin i cefalosporyn, hamowane przez inhibitory β-laktamaz, takie jak kwas klawulanowy, sulbaktam i tazobaktam. Enzymy typu AmpC hydrolizują penicyliny, cefalosporyny i monobaktam i są słabo hamowane przez klasyczne inhibitory ESBL, zwłaszcza kwas klawulanowy.

Fenotypowe metody potwierdzania ESBL, takie jak kombinowany test krążkowy (CDT), test synergizmu dwóch krążków (DDST) i test gradientowy ESBL (Liofilchem® MIC Test Strip ESBL) opierają się na hamowaniu aktywności ESBL przez kwas klawulanowy. Jednak obecność ESBL może być maskowana przez nadprodukcję enzymu AmpC.

ZASADA DZIAŁANIA

Hydrolizowana kwasem kazeina i ekstrakt z mięsa dostarczają aminokwasy, azot, minerały, witaminy, węgiel i inne czynniki, które umożliwiają rozwój mikroorganizmów. Skrobia działa jako substancja ochronna przed toksycznymi cząsteczkami, które mogą znajdować się w pożywce. Hydroliza skrobi podczas sterylizacji dostarcza niewielką ilość glukozy, która stanowi źródło energii. Agar jest środkiem zestalającym. Kloksacylina jest dobrym inhibitorem enzymu AmpC.

METODA

1. Przygotować zawiesinę badanego organizmu przy użyciu bezpośredniej zawiesiny kolonii lub metody wzrostu.
2. Zanurzyć sterylną wymazówkę z bawełnianym wacikiem w przygotowanej zawieszynie.
3. Zaszczepić powierzchnię płytki, pocierając wymazówką całą powierzchnię agaru.
4. Krążki lub paski nałożyć na powierzchnię zaszczepionej płytki agarowej.
5. Inkubować w warunkach tlenowych w temperaturze 35 ± 2°C przez 16–20 godzin.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Kombinowany test krążkowy (CDT)

Wynik testu jest dodatni, jeśli średnica strefy zahamowania jest większa o ≥ 5 mm z kwasem klawulanowym niż bez.

Test synergizmu dwóch krążków (DDST)

Wynik dodatni występuje, gdy strefa zahamowania zwiększa się w kierunku krążka zawierającego kwas klawulanowy.

MIC Test Strip ESBL (MTS-ESBL)

Wynik testu jest dodatni, jeśli obserwuje się 8-krotne obniżenie wartości cefalosporyny w połączeniu z kwasem klawulanowym w porównaniu z wartością samej cefalosporyny lub jeśli występuje strefa fantomowa lub zdeformowana elipsa

PRZECHOWYWANIE

2–8°C z dala od światła, do upływu daty ważności na etykiecie lub do momentu pojawienia się oznak zepsucia lub zanieczyszczenia.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Produkt nie zawiera substancji niebezpiecznych w stężeniach przekraczających limity określone w obowiązujących przepisach i dlatego nie jest klasyfikowany jako niebezpieczny. Niemniej jednak zaleca się zapoznanie się z kartą charakterystyki w celu jego prawidłowego stosowania. Produkt jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro* i musi być używany przez odpowiednio przeszkolonych operatorów.

UTYLIZACJA ODPADÓW

Odpady należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi i lokalnymi.

BIBLIOGRAFIA

1. Bauer et al. (1966) J. Clin. Pathol. 45:493-496.
2. Mueller J.H. and Hinton. (1941) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48:330-333.
3. Poirer L et al. (2003) J. Clin. Microbiol. 41:3542-3547.
4. Jacoby G.A. (2009) AmpC β-Lactamases. Clin. Microbiol. Rev. 22(1):161-182.
5. Thomson K.S. (2010) J. Clin. Microbiol. 48:1019-1025.
6. Garrec H. et al (2011) J. Clin. Microbiol. 49(3):1048-57.
7. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, 2013.



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel. +39 0858930745 Faks +39 0858930330 Strona internetowa: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@lioilchem.net



SPECYFIKACJA PRODUKTU

NAZWA

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN

POSTAĆ

Gotowe do użycia płytki

PRZECHOWYWANIE

2–8°C

OPAKOWANIE

Ref.	Zawartość	Opakowanie
11518	20 płytek	10 płytek w folii lutowanej termicznie 2 x 10 płytek w kartonowym pudełku

pH POŻYWKI

7,3 ± 0,2

ZASTOSOWANIE

MUELLER HINTON AGAR + CLOXACILLIN to pożywka stosowana w celu zwiększenia czułości w przypadku potwierdzenia obecności Enterobacteriaceae wytwarzających ESBL w izolatach wykazujących wysoki poziom ekspresji β-laktamaz AmpC

METODA

Należy zapoznać się z kartą techniczną produktu

WYGLĄD POŻYWKI

Bursztynowa pożywka, lekko opalizująca

TERMIN PRZYDATNOŚCI

6 miesięcy

KONTROLA JAKOŚCI

- Kontrola ogólnej charakterystyki, etykiety i druku
- Kontrola sterylności
7 dni w 22 ± 1°C, w aerobiozie
7 dni w 36 ± 1°C, w aerobiozie
- Kontrola mikrobiologiczna
Warunki inkubacji: 18–20 godzin w 35 ± 2°C

Mikroorganizm

<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 35218
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® BAA-1144

Wzrost

Dobry
Dobry
Dobry

fenotyp ESBL

–
+
+

fenotyp AmpC

–
–
+

TABELA SYMBOLI

LOT	Kod partii	IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>		Producent		Data ważności		Ostrożnie, krucha zawartość
REF	Numer katalogowy		Limity temperatury		Wystarcza do przeprowadzenia <n> testów		Uwaga, należy zapoznać się z instrukcją użytkowania		Nie używać ponownie

Tłumaczenie:
dystybutor Argenta Sp. z o. o. Sp. K.
ul. Polska 114
60-401 Poznań
dn. 24.02.2022



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel. +39 0858930745 Faks +39 0858930330 Strona internetowa: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

