

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το H.T.M. (HAEMOPHILUS TEST MEDIUM) χρησιμοποιείται για τον έλεγχο ευαισθησίας στα αντιβιοτικά του *Haemophilus influenzae* και άλλων Αιμόφυλλων.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Αυτό το μέσο, που χρησιμοποιείται στην τεχνική Kirby - Bauer και έχει υιοθετηθεί από την εθνική επιτροπή για τα κλινικά εργαστηριακά πρότυπα (NCCLS) στις ΗΠΑ ως οριστική μέθοδος για τη δοκιμή ευαισθησίας. Εφαρμόζεται με τα πρότυπα: CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), BSAC, DIN, κ.α.

Το β-NAD και η Hemin τα οποία προστίθεται στο Mueller Hinton, παρέχουν τους παράγοντες X και V για την ανάπτυξη κάποιων απαιτητικών μικροβίων όπως είναι ο Αιμόφυλλος.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Beef Extract	2.0
Acid Hydrolysed Casein	17.5
Starch	1.5
Agar No. 1	17.0
Calcium ions	50-100mg/litre
Magnesium ions	20-35mg/litre
Yeast Extract	5,0
Glycerol	44ml
β-NAD	10mg
Hemin	30mg

Εμφάνιση: Καφέ ανοιχτό διαυγές,

Τελικό pH 7.3 ± 0.2.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το H.T.M. είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγιεινολογική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε.

Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.

Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 18 - 25 °C για 4 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Φτιάξτε εναιώρημα σε 3ml ζωμό Mueller Hinton παίρνοντας μεμονωμένη αποικία. Η θολερότητα του ζωμού πρέπει να είναι ίση με 0,5 του δείκτη McFarland ($\leq 10^8$ cfu/ml). Γυρίστε και αναδεύστε τον στυλεό αρκετές φορές μέχρι να διαλυθεί καλά η αποικία. Επιστρώστε σε τρεις διευθύνσεις με περιστροφή του τρυβλίου κάθε φορά κατά 60°. Περιμένετε για 10 λεπτά, έτσι ώστε να στεγνώσει το τρυβλίο πριν τοποθετηθούν οι δίσκοι των αντιβιοτικών.

Τοποθετήστε τα δίσκια με διανεμητή ή με αποστειρωμένη λαβίδα σε απόσταση 24mm κέντρο με κέντρο. Επώαστε τα τρυβλία ανεστραμμένα σε 5-10% CO2 στους 35 – 37 °C για 16-18 ώρες και για 20-24 ώρες (*Streptococcus spp*, *N. meningitis*, *N. gonorrhoeae*).

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Εξετάστε τα τρυβλία στις 16-18 ώρες σε ειδικό φωτισμό μετρώντας τις ζώνες αναστολής.

Όριο ζώνης αναστολής είναι το σημείο όπου δεν παρατηρείται μικροβιακή ανάπτυξη με γυμνό μάτι.

Μετρήστε τις ζώνες αναστολής με χάρακα ή ειδικά όργανα με τη βοήθεια προσπίπτοντα ή διελαύνοντα φωτισμό.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα: η πυκνότητα του ενοφθαλμίσματος, η σύνθεση και το pH του υλικού, το περιβάλλον, ο χρόνος επώασης και η ποσότητα των δισκίων αντιβιοτικών (μέχρι 6 δίσκοι στο τρυβλίο των 9cm, μέχρι 16 δίσκοι στο τετράγωνο τρυβλίο 120 x 120cm και μέχρι 12 δίσκοι στο τρυβλίο των 150cm). Τα δισκία πρέπει να έχουν 24mm απόσταση μεταξύ τους. Το υλικό δεν θα πρέπει να έχει πάχος μεγαλύτερο από 4 χιλιοστά αλλά ούτε και μικρότερο γιατί τα αποτελέσματα δεν θα είναι απολύτως αξιόπιστα.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	Erythromycin 15 µg	Ampicillin 2 µg	Nalidixic acid 30 µg
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	*26 - 32	Αντοχή	Αντοχή
<i>Haemophilus influenzae</i> NCTC® 8468	Αντοχή	*19 - 25	*27 - 33

*Διάμετρος ζώνης αναστολής σε mm

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

H.T.M. (HAEMOPHILUS TEST MEDIUM) - **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm 20ml – 4mm	010203	10 τεμάχια	2 – 8 °C	2 μήνες
Τρυβλίο 120cm 50ml – 4mm	090203	5 τεμάχια	2 – 8 °C	2 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 521203771414010403SE. EDMA: (14 01 04 03) Susceptibility Test Media (Plates).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Mueller, J.H. and Hinton, J. (1941). Protein-free medium for primary isolation of gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 48: 330-333.

Goodale, W.I., Gould, G. and Schwab, L. (1943). Laboratory Identification of sulphonamide resistant gonococcal infection. J.Am. Med. Ass., 123: 547-549.

American Public Health Association. (1950). Diagnostic Procedures and Reagents. 3rd edn., A.P.H.A., New York.

NCCLS. (1986). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – second informational supplement.

Ελένη Βαγιάκου: Μέθοδος διάχυσης δίσκων αντιβιοτικών σε άγαρ. Μέθοδοι ελέγχου μικροβιακής αντοχής.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr