

**ISTRUZIONI PER L'USO****MUELLER HINTON AGAR II****Piastre pronte all'uso**Mueller Hinton Agar II: *P.aeruginosa* ATCC 27853**1 - DESTINAZIONE D'USO**Dispositivo diagnostico *in vitro*.

Terreno per l'esecuzione del test di sensibilità agli antibiotici dei batteri aerobi a crescita rapida, con il metodo della disco-diffusione.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Estratto di carne	2,0 g
Digerito acido di caseina	17,5 g
Amido solubile	1,5 g
Agar	17,0 g
Acqua purificata	1000 mL

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Lo sviluppo della resistenza batterica agli antibiotici nella prima metà del XX secolo, ha comportato la necessità per i medici di richiedere al laboratorio di microbiologia di testare l'agente patogeno contro varie concentrazioni di un determinato antimicrobico per determinare la suscettibilità o la resistenza a quel farmaco.¹ William M.M. Kirby propose un metodo a disco singolo per il test di sensibilità antimicrobica e, successivamente, Kirby e Bauer, revisionarono la letteratura sui test di sensibilità e pubblicarono i loro risultati, consolidando e aggiornando tutte le precedenti descrizioni del metodo della disco-diffusione.²

Nel 1961, questa pubblicazione portò l'Organizzazione Mondiale della Sanità a costituire un comitato per gettare le basi per lo sviluppo di una tecnica definita per i test di sensibilità. Il risultato fu una procedura standardizzata per l'antibiogramma, chiamato all'inizio test di Anderson e successivamente "metodo Kirby-Bauer".³ Il terreno di coltura proposto per questo metodo fu il Mueller Hinton Agar, originariamente sviluppato da Howard Mueller e Jane Hilton nel 1941 per l'isolamento dei gonococchi e dei meningococchi.⁴ Attualmente, il Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) per gli USA ed EUCAST per l'Europa sono responsabili dell'aggiornamento e della modifica della procedura originale, attraverso un processo di consenso globale.^{5,6} Nei documenti pubblicati sono incluse anche le linee guida interpretative per le zone di inibizione.^{5,7} L'agar Mueller Hinton è considerato il miglior terreno di coltura da utilizzare per il test di sensibilità agli antibiotici con il metodo della disco-diffusione ed è raccomandato sia da CLSI⁵ che da EUCAST⁶. Il terreno è adatto ed è stato standardizzato da EUCAST per testare la maggior parte dei patogeni, compresi i più comuni batteri a crescita rapida: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Aeromonas*, *Burkholderia pseudomallei*.⁶

Sono state osservate variazioni nelle prestazioni dell'agar Mueller-Hinton, tra lotto e lotto e tra prodotti di produttori diversi, che coinvolgono diverse cause.^{8,9} La concentrazione di cationi bivalenti Mg ++ e Ca ++ influenza la sensibilità di *Pseudomonas* spp. a tetraciclina, gentamicina, polimixina B e carbenicillina¹⁰; la concentrazione di calcio modifica le zone di inibizione della daptomicina sui batteri Gram positivi.¹¹ La variazione del contenuto di timina e timidina influenza le zone di inibizione di sulfonamide/ trimetoprim.^{12,13} La concentrazione di zinco, influenza l'interpretazione della resistenza ai carbapenemi di *P.aeruginosa*.¹⁴ La concentrazione di manganese, influenza l'interpretazione della resistenza alla tigeciclina delle *Enterobacteriaceae* e di *A. baumannii*.¹⁵

Mueller Hinton Agar II prodotto da Biolife mostra una buona riproducibilità tra lotti nel test di sensibilità, ha un basso contenuto di inibitori dei sulfamidici e del trimetoprim (timina e timidina), supporta una crescita soddisfacente dei batteri Gram positivi e Gram negativi non esigenti, contiene livelli controllati ed aggiustati di calcio, magnesio e zinco per garantire zone di inibizione ottimali di aminoglicosidi, tetraciclina e polimixina B con *P. aeruginosa*, di daptomicina con *E.faecalis* e dei carbapenemi con *P. aeruginosa*.

Nella valutazione EUCAST⁹ del terreno Mueller-Hinton Agar di 21 aziende, il Mueller Hinton Agar II Biolife e quelli di altre cinque aziende hanno mostrato prestazioni eccellenti, con più del 99% delle zone di inibizione entro gli intervalli definiti per il controllo qualità e con più del 70% degli aloni entro il valore target ± 1 mm.

4 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto	limpido, di colore giallo paglierino.
pH finale a 20-25 °C	7,3 \pm 0,1
Strato del terreno in piastra	4,0 \pm 0,5 mm

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Mueller Hinton Agar II	Piastre pronte all'uso	541740	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone
Mueller Hinton Agar II – 150 mm	Piastre pronte all'uso	501740P	5 piastre ø 150 mm confezionamento primario: 1 sacchetto di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone





6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, dischi di carta con antibiotici.

7 - CAMPIONI

Il test di sensibilità con il metodo della disco-diffusione è effettuato su colture pure dei ceppi in esame, isolati da campioni clinici. Mueller Hinton Agar II non è destinato all'isolamento microbico direttamente da campioni clinici.

È consigliabile una colorazione Gram e un'identificazione batterica preliminare per la scelta appropriata degli agenti antimicrobici da testare.

EUCAST ha pubblicato un metodo per il test di sensibilità rapido (lettura dopo 4, 6 o 8 ore di incubazione) direttamente dai flaconi per emocolture positivi, validato per alcuni batteri; consultare il documento EUCAST per la tecnica, la lettura e l'interpretazione delle zone di inibizione.¹⁶

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

- Il metodo qui riportato è una sintesi della procedura di lavoro descritta nei documenti EUCAST a cui fare riferimento per i dettagli.^{6,7,17}
- La superficie dell'agar deve essere asciutta prima dell'uso. Non devono essere visibili gocce d'acqua sulla superficie dell'agar o all'interno del coperchio. Se necessario, asciugare le piastre a 20-25°C durante la notte o a 35°C, con il coperchio rimosso, per 15 minuti. Non asciugare eccessivamente le piastre.
 - Per mezzo di un ansa o di un tamponcino prelevare diverse colonie con la medesima morfologia da una coltura di 18-24 ore su terreno non selettivo.
 - Sospendere le colonie in soluzione fisiologica sterile fino ad ottenere una opacità simile a quello dello Standard McFarland 0,5. Se è il caso aggiungere più colonie o aggiungere soluzione fisiologica. Questa sospensione deve essere usata entro 60 minuti dalla preparazione.
 - Immergere un tamponcino di cotone nella sospensione. Per i batteri Gram negativi spremere il tamponcino sulle pareti della provetta per evitare un eccesso di inoculo. Per i batteri Gram positivi non è consigliabile eliminare l'eccesso di inoculo.
 - Con il tamponcino di cotone inoculare la piastra di Mueller Hinton Agar II facendo uso di un inoculatore rotante automatico o strisciando manualmente su tutta la superficie del terreno avendo cura di verificare che non vi siano zone della piastra prive di inoculo.
 - Entro 15 minuti dalla semina delle piastre posizionare i dischi con antibiotici. Prima della apertura delle cartucce contenenti i dischi lasciare che raggiungano la temperatura ambiente. Premere leggermente i dischi in modo che aderiscano bene alla superficie del terreno; una volta depositati sulla piastra non spostarli per nessuna ragione. Normalmente posizionare 6 dischi sulle piastre da 90 mm e 12 dischi su piastre da 150 mm. Evitare di posizionare un numero eccessivo di dischi per non incorrere in problemi di sovrapposizione degli aloni di inibizione.
 - Per la determinazione della resistenza inducibile alla clindamicina per gli stafilococchi, posizionare i dischi di eritromicina e di clindamicina ad una distanza di 12-20 mm (bordo/bordo)
 - Entro 15 minuti dalla deposizione dei dischi, capovolgere le piastre, assicurandosi che non vi sia caduta dei dischetti di carta, e trasferire in termostato.
 - Incubare a 35 ± 1°C in aerobiosi per 16-20 ore (24 ore per glicopeptidi/*Enterococcus*). Non protrarre l'incubazione oltre i tempi indicati.

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione, osservare la crescita sulla superficie della piastra: essa deve essere uniforme senza aree di interruzione, senza colonie isolate ed i bordi degli aloni di inibizione non devono essere frastagliati. Nel caso la crescita non risultasse confluente ed omogenea ed i bordi degli aloni apparissero frastagliati, il test deve essere ripetuto.

Controllare che gli aloni sui ceppi del controllo qualità siano entro i limiti delle specifiche.

Misurare gli aloni di inibizione dal fondo della piastra senza rimuovere i coperchi, tenendo conto del punto di completa inibizione della crescita, con le piastre a circa 30 cm dagli occhi e illuminando le piastre con luce riflessa.

Per specifiche istruzioni di lettura delle piastre si rimanda al documento EUCAST citato.⁶

Interpretare la misura degli aloni per la categorizzazione del ceppo in Sensibile/Intermedio/Resistente facendo uso delle tabelle riportate sul documento EUCAST citato in bibliografia.⁷

10 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di Mueller Hinton Agar II sono testati in accordo alle regole di EUCAST.^{6,17} È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. EUCAST indica l'elenco dei ceppi batterici da impiegare per il controllo qualità⁶ riportati qui di seguito; normalmente si impiegano ceppi sensibili, ma, in funzione delle proprie necessità e per monitorare la qualità oltre che del terreno di coltura anche dei dischi con antibiotici, è raccomandabile l'impiego anche dei ceppi resistenti. Verificare che i risultati dei ceppi di controllo rientrino negli intervalli di accettabilità delle tabelle EUCAST.¹⁷

- Escherichia coli* ATCC 25922 - ceppo sensibile
- Escherichia coli* ATCC 35218 - β-lattamasi TEM 1 (per il controllo del componente inibitorio nelle combinazioni β-lattamico+inibitore delle β-lattamasi).
- Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 - produttore di ESBL (per il controllo del componente inibitorio nelle combinazioni β-lattamico+inibitore delle β-lattamasi).
- Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 - ceppo sensibile.
- Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-2814 KPC-3, SHV-11 e TEM-1
- Staphylococcus aureus* ATCC 29213 - debole produttore di β-lattamasi.
- Enterococcus faecalis* ATCC 29212 - ceppo sensibile.
- Staphylococcus aureus* NCTC 12493 - mecA+, MRSA.
- Enterococcus faecalis* ATCC 51299 - HLAR, vanB+

Per i dettagli sulla scelta degli antibiotici, sui ceppi di controllo, sulla frequenza dei controlli e per le tabelle degli intervalli di accettabilità, consultare i documenti EUCAST.^{6,17}

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection; NCTC è un marchio registrato di National Collection of Type Cultures.





11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di Mueller Hinton Agar II da 90 mm e da 150 mm e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Mueller Hinton Agar II, REF 401740) sono testati per la produttività, per il test di sensibilità agli antibiotici su disco e con il dosaggio degli ioni calcio e magnesio, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

La produttività è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi: *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923, *P.aeruginosa* ATCC 27853. Dopo incubazione a 35-37°C per 16-20 h ore in aerobiosi si osserva l'entità delle crescite microbiche; tutti i ceppi mostrano buone crescite.

Il test di sensibilità agli agenti antimicrobici è eseguito in conformità al metodo EUCAST⁶ con i seguenti ceppi microbi/dischi con antibiotici: *E.faecalis* ATCC 29212: TRS, DAP (Etest), CIP; *E.coli* ATCC 35218: AMS, PIT; *E.coli* ATCC 25922: AMI, AMC, AMP, CTZ, CXI, CTA, CIP, CHL, GEN, IMI, TRS; *S.aureus* ATCC 25923: APM, CHL, CIP, CLI, ERY, GEN, LIN, BEN, QUD, TET; *P.aeruginosa* ATCC 27853: AMI, AZT, CEP, CTZ, CIP, GEN, IMI, PIT, TOB. Dopo incubazione a 35-37°C per 16-20 h ore in aerobiosi si misurano le zone di inibizione e si verifica che siano all'interno degli intervalli per il controllo qualità riportato da EUCAST e/o CLSI.^{5,17}

La concentrazione degli ioni Ca++ e Mg++ è determinata su tutti i lotti di produzione della materia prima terreno in polvere per assicurare una riproducibilità di risultati tra lotti diversi.

Nel periodo 2018-2019 EUCAST ha valutato le prestazioni di 21 marchi disponibili a livello internazionale di agar Mueller-Hinton di 17 produttori.⁹ Il test di sensibilità è stato eseguito sui quattro ceppi standard per il controllo qualità (*E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212) con 18 tipi di dischi, scelti per rappresentare diverse classi antibiotiche e per includere molecole che potessero rivelare gli effetti di diverse variabili sui risultati del test di sensibilità, quali il pH, il contenuto di cationi e di timidina. Tutti i campioni sono stati testati alla cieca e in parallelo. Per tutti campioni sono stati inoltre misurati lo strato del terreno in piastra, il pH e le concentrazioni di cinque cationi (Mg, Ca, Zn, Mg, Fe). A ciascun campione è stata assegnata una valutazione totale basata su come i valori medi degli aloni di inibizione in triplicato (30 per ciascun terreno), si posizionavano rispetto agli intervalli di accettabilità delle tabelle di controllo qualità EUCAST. Il Mueller Hinton Agar II Biolife ha mostrato prestazioni eccellenti, con il 99% delle zone di inibizione entro gli intervalli definiti per il controllo qualità e con l'81% degli aloni entro il valore target ± 1 mm.

12 - LIMITI DEL METODO

- L'ottenimento di risultati accurati nel test di sensibilità per agar diffusione dipende oltre che dalla qualità del terreno di coltura, dalla qualità dei dischi con antibiotici. EUCAST in uno studio del 2016, riporta variazioni consistenti nelle prestazioni di 16 tipi diversi di antibiotici reperiti da nove produttori.¹⁸ E' responsabilità dell'utilizzatore implementare un piano per il controllo qualità dei dischi con antibiotici.
- Una concentrazione errata dell'inoculo, la conservazione impropria dei dischi con antimicrobici, la conservazione impropria delle piastre con conseguente modifica dello strato del terreno e del pH, l'umidità eccessiva delle piastre, misurazioni scorrette delle zone di inibizione, sono tutti elementi che possono produrre risultati errati.^{19,20} Per garantire risultati affidabili è necessaria la stretta aderenza al protocollo di lavoro sopra riassunto.
- I dischi di colistina non sono indicati per il metodo della disco-diffusione a causa delle grandi dimensioni della molecola. Per lo studio della sensibilità/resistenza alla colistina, un documento comune CLSI/EUCAST, raccomanda l'impiego delle micro diluizioni in brodo.²¹
- Si possono riscontrare ceppi batterici che dipendono per la crescita dalla presenza nel terreno di timina e timidina;²² questi ceppi non coltivano adeguatamente su Mueller Hinton Agar II.
- Consultare i documenti EUCAST e/o CLSI per i dettagli della procedura di lavoro, della lettura e dell'interpretazione delle zone di inibizione, per le avvertenze, per i documenti di orientamento per il test di sensibilità, per le linee guida per il rilevamento dei meccanismi di resistenza, per i breakpoint clinici.
- Mueller Hinton Agar II può essere impiegato per la determinazione delle Minime Concentrazioni Inibenti con strisce contenenti gradienti di antibiotici . Per l'esecuzione di tale metodica si raccomanda di seguire le istruzioni d'uso del fornitore di strisce e di validare in laboratorio la procedura di lavoro.
- Il terreno in piastra qui descritto è da intendersi come un ausilio alle scelte terapeutiche per le infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati del test di sensibilità agli antimicrobici deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare le piastre con le precauzioni d'uso specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.





14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology (ASM), December 8, 2009.
2. Bauer AW, Perry DM, Kirby WM. Single disk antibiotic sensitivity testing of staphylococci. Analysis of technique and results. Arch Intern Med 1959; 104:208
3. Mueller JH, Hinton J. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc Soc Exp Biol Med 1941; 48:330-333.
4. Standardisation of Methods for conducting microbial sensitivity tests. WHO Technical Report Series 210. Geneve, Word Health Organisation, 1961.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2020.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing - Version 8.0 (January 2020). <http://www.eucast.org>.
7. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. <http://www.eucast.org>.
8. Pollock HM, Minshew BH, Kenny MA, Schoenkecht FD. Effect of Different Lots of Mueller-Hinton Agar on the Interpretation of the Gentamicin Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa. Ant Microb Ag Chemother 1978; 14:360
9. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Warning issued 28 February, 2020 Variation in performance of Mueller Hinton dehydrated media for antimicrobial susceptibility testing. <http://www.eucast.org>
10. D'Amato RF, Thornsberry C, Baker CN, Kirven LA. Effect of calcium and magnesium ions on the susceptibility of Pseudomonas species to tetracycline, gentamicin, polymyxin B, and carbenicillin. Antimicrob Agents Chemother 1976; 7:596-600
11. Fuchs p. et al. Evaluation of susceptibility testing by Etest and the effect of different batches of media. J Antimicrob. Chemother 2001; 48:557-561
12. Koch AE, Burchall JJ. Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. Appl Microbiol 1971;22:812-817.
13. Salter AJ. Overview. Trimethoprim-Sulfamethoxazole: an assessment of more than 12 years of use. Reviews of Infectious Diseases, Vol. 4, No. 2, Symposium on Trimethoprim-Sulfamethoxazole (TMP-SMZ) (Mar. - Apr., 1982), pp. 196-236. Oxford University Press
14. Daly JS, Dodge RA, Glew RH et al. Effect of zinc concentration in Mueller-Hinton Agar on susceptibility of Pseudomonas aeruginosa to imipenem. J Clin Microbiol 1997; 35:1027-1029
15. Veenemans J, Mouton JW, Kluytmans JA, Donnerly R, Verhulst C, van Keulen, PHJ. Effect of manganese in test media on in vitro susceptibility of Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii to tigecycline. J.Clin.Microbiol 2012; 50: 3077-3079.
16. Jonasson E, Matuschek E, Kahlmeter G. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. J Antimicrob Chemother 2020; 75: 968-978
17. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 10.0, 2020. <http://www.eucast.org>."
18. Ahman J, Matuschek E, Kahlmeter G. The quality of antimicrobial discs from nine manufacturers , EUCAST evaluations in 2014 and 2017. Clinical Microbiology and Infection 2019; 25:346-352
19. Matuschek E. EUCAST Educational Workshop. Technical problems and controversies in antimicrobial susceptibility testing. ECCMID 2017, Vienna,Austria.
20. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
21. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing and Clinical and Laboratory Standards Institute. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E) as recommended by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. 2016. http://www.eucast.org/guidance_documents/.
22. Haltiner RC, Migneault PC, Robertson RG. Incidence of thymidine-dependent enterococci detected on Mueller-Hinton Agar with low thymidine content. Antimicrob Agents Chemother 1980; 18: 365-368

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro					
	Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> saggi		Consultare le Istruzioni per l'Uso		Non riutilizzare		Fragile maneggiare con cura

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	05/2020
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 5	Rimozione della classificazione obsoleta	03/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

