



Caramuel 38, 28011 Madrid • Tel. 91 464 94 50 - 91 464 36 00  
Fax. 91 464 62 58 • [www.f-soria.es](http://www.f-soria.es)

FICHA TÉCNICA: 770317

Rev. : Septiembre/2009

Producto: **MUELLER HITON AGAR WITH 5% SHEEP BLOOD**  
**PLACA DE 90 mm**

## **USO**

El Agar Mueller Hinton Sangre , es recomendado para la técnica de susceptibilidad a antibióticos por difusión desde discos impregnados de antibióticos en *Streptococcus pneumoniae* y otros *Streptococcus* como sistema estandarizado por la NCCLS ( Natinal Committee for Clinical Laboratory Standars)

## **PRINCIPIO**

A comienzos de los años sesenta los laboratorios microbiológicos utilizaron una gran variedad de procedimientos para determinar la sensibilidad de las bacterias a antibióticos y agentes quimioterápicos. Bauer , Kirby y otros desarrollaron un procedimiento estándar basado en el uso del Agar Mueller Hinton, medio originalmente desarrollado para el cultivo de gonococcos, se seleccionó este medio por una relativa buena reproductibilidad y la simplicidad de su composición , además de la acumulación de datos experimentales de su utilización.

La NCCLS ( National Committee for Clinical Laboratory Standards) recomienda este medio para la realización de pruebas de sensibilidad a antibióticos. El procedimiento está basado en la difusión de las sustancias antimicrobianas que impregnan un disco de papel a través de un gel de agar , en este método los diámetros de los halos de inhibición se correlacionan con la concentración mínima inhibitoria.

Varios factores se han identificado con influencia en los test de sensibilidad a antibióticos, como es la concentración del inóculo, pH y producción de Beta-lactamasa. Los niveles de Tiamina y Timidina deben ser bajos ya que afectan a la actividad de Sulfonamidas y Trimetoprim frente a *Enterococcus faecalis*, las concentraciones de calcio y magnesio afectan a la actividad de los Aminoglucósidos frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Por ello el Agar Mueller Hinton esta fabricado con bajos niveles de Tiamina y Timidina , además de tener ajustados los niveles de calcio y magnesio.

El agar Mueller Hinton no suplementado no es adecuado para la realización de estas pruebas en el caso de *Streptococcus*, para este germen u otros *Streptococcus*, la NCCLS recomienda la utilización de Agar Mueller Hinton enriquecido con un 5% de sangre de carnero desfibrinada.

## COMPOSICION POR LITRO DE MEDIO EN AGUA PURIFICADA

Extracto de carne	2,0 g
Hidrolizado ácido de caseína	17,5 g
Almidón	1,5 g
Agar	17,0 g
Sangre de carnero desfibrinada	5 %

pH : 7,3 +/- 0,2

### PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo de profesionales.

No debe ser utilizado en caso de presentar contaminación microbiana, decoloración , signos de deshidratación, hemólisis, roturas u otros signos de deterioro.

Utilizar bajo procedimientos de laboratorio , tratar siempre como material biopeligroso.

### ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Una vez recibidas en el laboratorio, almacenar en lugar oscuro y seco a una temperatura de 8 °C, en su embalaje original hasta el momento de uso.

Evitar la congelación y el sobrecalentamiento, que pueden provocar hemólisis

Las placas deben estar a temperatura ambiente antes de ser inoculadas.

No deben utilizarse con posterioridad a la fecha de caducidad.

Las bolsas deben ser abiertas cuando vayan a ser utilizadas, una vez abiertas las que no se utilicen deberán mantenerse en áreas limpias y refrigeradas.

### REALIZACIÓN ANTIBIOGRAMAS

Para la realización del antibiograma se recomienda el procedimiento propuesto por la NCCLS, partiendo de un cultivo puro tomar 4 o 5 colonias y transferirlas a un caldo Mueller Hinton, incubar durante seis horas y ajustar frente al patrón 0,5 de MacFarland si es necesario.

Introducir una torunda en el caldo, escurriendo el exceso de caldo de la misma contra las paredes del tubo, sembrar una placa de Agar Mueller Hinton Sangre pasando repetidamente la torunda por la superficie, a los diez minutos aplicar los discos de antibióticos, esperar 15 minutos e incubar de 16 a 18 horas, en atmósfera enriquecida con un 5 % de dióxido de carbono.

Para testar la Penicilina frente a *S. pneumoniae*, utilizar discos de 1 µg de Oxacilina

La medición del diámetro de inhibición debe incluir el del propio disco, se debe considerar la zona de inhibición de crecimiento, no la de hemólisis.

Los diámetros medidos pueden compararse el la Tabla 2G para *S.pneumoniae* y 2H para otros *Streptococcus* en el documento M100-S10 (M2-7) de la NCCLS, donde se encontrarán los criterios de interpretación .

La técnica de determinación de sensibilidad a antibióticos en disco por difusión, está diseñada para la utilización exclusivamente de cepas puras .

Para Amoxicilina, Ampicilina, Cefotaxima, Ceftriaxona, Cefuroxima e Imipenem, la técnica descrita carece de criterios, y para estos antibióticos debe utilizarse la técnica de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

En las pruebas de sensibilidad a Penicilina y Oxacilina con el *S.pneumoniae*, se considera que los diámetros iguales o superiores a 20 mm clasifican al microorganismo como sensible y equivalen a una CMI equivalente a 0,06 mg/ml de penicilina.

Con la cepa *Streptococcus pneumoniae* han sido utilizados discos para sensibilidad de los siguientes antibióticos : Cefaclor, Cefprozil, Cloranfenicol, Eritromicina, Ofloxacina, Tetraciclina, Trimetoprim-Sulfametoxazol y Vancomicina. Siendo la desviación estándar inferior a 1 mm en el caso de la Tetraciclina e inferior a 2mm en los otros antimicrobianos.

Los factores influyentes en la técnica de sensibilidad a los discos de antibióticos son varios: el propio medio, el grosor del agar, la potencia del disco, la concentración del inóculo, la antigüedad del inóculo y el pH.

Un inóculo incorrecto puede provocar resultados erróneos , el incorrecto almacenamiento de los discos puede provocar falsas resistencias.

La sensibilidad de un microorganismo frente a un antimicrobiano “in vitro” no asegura que el antimicrobiano sea efectivo “in vivo”.

Este medio se debe utilizar exclusivamente para pruebas de sensibilidad a antibióticos frente a *S. pneumoniae* y otros *Streptococcus* beta-hemolíticos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Approved Standard: M2-A7. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7<sup>th</sup> ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, USA..
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. Tenover, and R.H. Tenover (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: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8<sup>th</sup> ed. 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. Sahn, 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.

## PRESENTACION Y NUMERO DE CATÁLOGO

Número de catálogo: 770317

Presentación: caja conteniendo 20 placas de medio listo para su uso



Caramuel 38, 28011 Madrid  
Tel. 91 464 94 50 - 91 464 36 00  
Fax. 91 464 62 58 • [www.f-soria.es](http://www.f-soria.es)