



Caramuel 38, 28011 Madrid • Tel. 91 464 94 50 - 91 464 36 00
Fax. 91 464 62 58 • www.f-soria.es

FICHA TÉCNICA: 770305

Rev. : Septiembre/2009

Producto: **MUELLER HINTON AGAR**
PLACA DE 90 mm

USO

El Mueller Hinton Agar es utilizado en la estandarización del procedimiento de difusión de discos para la determinación de sensibilidad a antibióticos de bacterias aerobias y anaerobias facultativas de crecimiento rápido .

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 gonococos, se selecciono este medio por una relativa buena reproductibilidad y la simplicidad de su composición , además de la acumulación de datos experimentales en 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 , 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.

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

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, 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.

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 ó 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 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 la tabla siguiente se indican los cultivos tipo recomendados y los resultados de sensibilidad que se obtienen expresados en diámetros de inhibición obtenidos en mm de acuerdo con la NCCLS

Cepas	Ampicilina 10 microgramos	Tetraciclina 30 microgramos	Gentamicina 10 microgramos	Polimixina 3300 UI	Sulfametoxazol/Trimetoprim 1,25 microgramos/ 23,75 microgramos
Escherichia Coli ATCC 25922	15-20	18-25	19-28	12-16	24-32
Staphylococcus aureus ATCC 25923	24-35	19-27	19-27	7-13	24-32
Streptococcus faecalis ATCC 33186	--	--	--	--	16-23
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	--	--	16-21	--	--

Los resultados obtenidos pueden ser informados como Resistente /Intermedio /Sensible
La información en los suplementos de la NCCLS documento M2-A7, o versiones posteriores, contienen las tablas revisadas de discos antimicrobianos y su interpretación , siendo publicadas periódicamente

CARACTERISTICAS y LIMITACIONES DE USO

Las placas de Agar Mueller Hinton , han sido controladas microbiológicamente, pueden requerir el uso de otros medios de cultivo auxiliares, reactivos y equipos de laboratorio de forma complementaria

El Agar Mueller Hinton es un medio estándar utilizado para pruebas de sensibilidad, medio de rápido crecimiento para bacterias aeróbicas o anaeróbicas facultativas, como Staphylococcus, Enterococcus, Enterobacterias y bacterias aeróbicas Gram negativas. Otros procedimientos ,medios y condiciones han sido desarrollados para microorganismos exigentes como Haemophilus spp., Neisseria spp., y Streptococcus.

Las condiciones de almacenamiento de los discos antimicrobianos pueden originar disminución de potencia y falsos resistentes.

La concentración y cantidad de los inóculos pueden alterar la interpretación de los resultados.

Las pruebas de sensibilidad "in vitro" en algunas ocasiones no se correlacionan con la utilización de los antibióticos " in vivo"

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
2. Ryan, K.J., F.D. Schoenknecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc sensitivity testing. *Hospital Practice* 5:91-100.
3. Barry, A.L., F. Garcia, and L.D. Thrupp. 1970. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. *Am. J. Clin. Pathol.* 53:149-158.
4. Mueller, J.H., and J. Hinton. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 48:330-333.
5. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl.* 217.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Approved standard: M2-A7. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
7. Woods, G.L., and J.A. Washington. 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.C. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
8. Thornsberry, C., T.L. Gavan, and E.H. Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society of Microbiology, Washington, DC.
9. Koch, A.E., and J.J. Burchall. 1971. Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. *Appl. Microbiol.* 22:812-817.
10. Ferone, R., S.R.M. Bushby, J.J. Burchall, W.D. Moore, and D. Smith. 1975. Identification of Harper-Cawston factor as thymidine phosphorylase and removal from media of substances interfering with susceptibility testing to sulfonamides and diaminopyrimidines. *Antimicrob. Agents Chemother.* 7:91-98.
11. Reller, L.G., F.D. Schoenknecht, M.A. Kenny, and J.C. Sherris. 1974. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. *J. Infect. Dis.* 130:454-463.
12. Pollock, H.M., B.H. Minshew, M.A. Kenny, and F.D. Schoenknecht. 1978. Effect of different lots of Mueller-Hinton Agar on the interpretation of the gentamicin susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14:360-367.
13. D'Amato, R.F., and C. Thornsberry. 1979. Calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. *Current Microbiol.* 2:135-138.
14. Wegner, D.L., C.R. Mathis, and T.R. Neblett. 1976. Direct method to determine the antibiotic susceptibility of rapidly growing blood pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:861-862.
15. Johnson, J.E., and J.A. Washington II. 1976. Comparison of direct and standardized antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10:211-214.
16. Waterworth, P.M., and M. Del Piano. 1976. Dependability of sensitivity tests in primary culture. *J. Clin. Pathol.* 29:179-184.

17. Hollick, G.E., and J.A. Washington II. 1976. Comparison of direct and standardized disk diffusion susceptibility testing of urine cultures. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9:804-809.
18. 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.
19. Hindler, J.A., and C.B. Anderbied. 1985. Effect of the source of Mueller-Hinton agar and resistance frequency on the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 21:205-210.
20. Maskell, R., O.A. Okubadejo, R.H. Payne, and L. Pead. 1977. Human infections with thymine-requiring bacteria. *J. Med. Microbiol.* 11:33-45.
21. Haltiner, R.C., P.C. Migneault, and R.G. Robertson. 1980. Incidence of thymidine-dependent enterococci detected on Mueller-Hinton agar with low thymidine content. *Antimicrob. Agents Chemother.* 18:365-368.
22. Murray, B.E. 1990. The life and times of the Enterococcus. *Clin. Microbiol. Rev.* 3:46-65.
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved standard: M7-A4 Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
24. Jorgensen, J.H., and J.D. Turnidge. 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*

PRESENTACION Y NUMERO DE CATÁLOGO

Número de catálogo: 770305

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