

mikrobiologie labor technik

# Mueller-Hinton Agar + 5% Sânge de Berbec

## PRINCIPIU

Mediul Mueller-Hinton cu sânge este recomandat pentru testarea susceptibilității discurilor antimicrobiene de difuziune pentru bacteriile cele mai comune și cu creștere rapidă. Formula sa este conformă cu cerințele N.C.C.L.S., WTO și S.F.M. Conținutul în ioni de  $\text{Ca}^{2+}$  (50-100 mg/l) și  $\text{Mg}^{2+}$  (25-35 mg/l) este ajustat pentru a standardiza determinarea sensibilității speciei *Pseudomonas* la aminoazide, colistin și tetraciclină și a speciei *Pseudomonas aeruginosa* la gentamicină. Nivelele de timidină și timidină, ce inhibă acțiunea sulfamidelor și a trimetoprimului, sunt scăzute. pH-ul final al mediului gata de folosire este ușor bazic pentru a evita alterarea activității unor antibiotice. Adăugarea de sânge în mediu permite efectuarea antibiogramelor pentru unii germeni sensibili, cum ar fi: *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* și *Streptococcus pneumoniae*. Se întrebuințează doar *in vitro*.

## FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Extract de carne de vită	2.00
Acid de digestie al cazeinei	17.50
Amidon	1.50
Agar	17.00
pH final: 7.3 ± 0.2 la 25°C	

## METODA

Se suspendă 38 g de pudră într-un litru de apă distilată. Se aduce ușor la fierbere, agitând până la dizolvare completă. Se autoclavează 15 minute la 121°C. A NU SE SUPRAÎNCĂLZI MEDIUL.

## TEHNICA

Se lichefiază mediul la 40-50°C. Se toarnă mediul în plăci Petri sterile. Turnarea agarului trebuie făcută în așa fel încât să se obțină un strat uniform cu înălțimea de 4 mm. Se usucă plăcile într-un incubator la 37°C timp de 30 de minute. Scopul acestei operații este de a duce mediul cât mai aproape de temperatura de incubare și pentru a evita variațiile mari de temperatură, dăunătoare pentru anumiți germeni sensibili.

Se însămânțează culturile pure diluate prin saturare sau tamponare. Se usucă plăcile într-un incubator la 37°C pentru 15 minute. Se aplică discurile cu antibiotice sau stripurile Etest pe suprafața mediului. Se asigură că numărul de discuri și dispunerea lor pe suprafața mediului nu determină suprapunerea zonelor de inhibiție. Pentru a obține o predifuziune a antibioticelor, se lasă plăcile la temperatura camerei 15 minute. Se incubează la 37°C pentru 18-24 de ore.

## REZULTATE

Se măsoară diametrul zonelor de inhibiție și se interpretează valorile obținute în conformitate cu Comitetul Francez de Antibiogramă sau se citește CMI pentru fiecare antibiotic (pentru Etest).

## BIBLIOGRAFIE

1. 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.

2. O.M.S. 1971. Comité d'Experts sur la standardisation biologique - Rapport technique, série 673 OMS Genève, 156-192 (Normes n°26 pour les substances biologiques, révision 1981).
3. N.C.C.L.S. 1990. Approved standard : M2-A4. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 4th Ed. NCCLS. Vol. 10 No. 7.
4. Société Française de Microbiologie. Communiqué du Comité de l'Antibiogramme.
5. E.test Technical Manual.

#### **AMBALARE**

##### **Mediul deshidratat**

(A se păstra între 1-30°C)

140147A: Flacon de 500 g

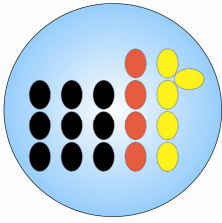
140147L: Flacon de 500 g

##### **Mediul gata preparat**

(A se păstra între 2-8°C)

110148: Cutie cu 20 plăci de 90 mm Ø

120185: Cutie cu 32 tuburi de 7 ml



mikrobiologie labor technik

# Mueller-Hinton Agar + 5% Sheep Blood

## PRINCIPLE

Mueller-Hinton with blood medium is recommended for antimicrobial disc diffusion susceptibility testing of common and rapidly growing bacteria. Its formula complies with the requirements of the N.C.C.L.S., the WTO and the S.F.M. The  $\text{Ca}^{2+}$  (50-100 mg/l) și  $\text{Mg}^{2+}$  (25-35 mg/l) ions contents are adjusted to standardize the susceptibility determining of *Pseudomonas* to aminosides, colistin and tetracyclines, and of the *Pseudomonas aeruginosa* to gentamicine. The levels of thymine and thymidine, inhibiting the action of sulfamides and trimethoprim, are low. The final pH (7.3) of the ready to use medium is slightly basic to avoid altering the activity of some antibiotics. The blood addition allows to carry out the antibiogram of delicate germs such as *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* and *Streptococcus pneumoniae*.

## FORMULA

Components	g/l
Beef extract	2.00
Acid digest of Casein	17.50
Starch	1.50
Agar	17.00
Final pH : 7.3 ± 0.2 at 25°C	

## PREPARATION

Pour 38 g of powder in one litre of distilled water. Bring slowly to the boil, shaking until complete dissolution. Autoclave at 121°C for 15 minutes **DO NOT OVERHEAT**

## PROCEDURE

Liquefy the ready to use medium at about 45-50°C. Pour it into sterile Petri dishes (round 90 mm or square 120x120 mm according to the

number of discs or Etest strips to place). The agar distribution must be carried out so as to obtain a uniform layer of 4 mm of depth. Dry the plates in an incubator at 37°C during 30 minutes. The aim of this operation is also to get the medium closer to the incubation temperature and to avoid the big thermic variations which are dangerous for some delicate germs. Inoculate the diluted pure cultures, by saturating or swabbing. Dry the plates in an incubator at 37°C during 15 minutes maximum. Apply the discs containing antibiotics or the Etest strips on the surface of the medium. Make sure that the number of discs and their disposition on the surface of the medium do not entail an overlapping of the inhibition zones. To obtain a pre-diffusion of the antibiotics, let the plates at room temperature during 15 minutes. Incubate at 37°C during 18-24 hours.

## RESULTS

Measure the diameter of the inhibition zones and interpret the values obtained according to the recommendations of the Comité Français de l'Antibiogramme. Or read the MIC for each antibiotic (use of E.test).

## BIBLIOGRAPHY

1. 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.
2. O.M.S. 1971. Comité d'Experts sur la standardisation biologique - Rapport technique, série 673 OMS Genève, 156-192 (Normes n°26 pour les substances biologiques, révision 1981).
3. N.C.C.L.S. 1990. Approved standard : M2-A4. Performance standards for

- antimicrobial disk susceptibility tests, 4th  
Ed. NCCLS. Vol. 10 No. 7.
4. Société Française de Microbiologie.  
Communiqué du Comité de  
l'Antibiogramme.
  5. E.test Technical Manual.

## **PACKAGING**

### **Dehydrated medium**

To be stored between 1 and 30°C  
140147A: Flask of 500 g  
140147L: Flask of 500 g

### **Ready to use medium**

To be stored between 2 and 25°C  
110148: Pack of 3 flasks of 200 ml  
120185: Pack of 32 tubes of 7 ml