



Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%)

Medium for antimicrobial susceptibility testing of certain fastidious organisms by the disc diffusion technique, as standardized by the CLSI.

DESCRIPTION

Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) is a medium recommended for antimicrobial susceptibility testing of *Streptococcus* spp. and *Neisseria meningitidis* by the disc diffusion technique (Kirby-Bauer method), as standardized by the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI).

TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Beef Extract	2.0
Acid Hydrolysate of Casein	17.5
Starch	1.5
Agar	17.0
Sheep Blood, defibrinated	50 ml
Final pH 7.3 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Acid hydrolysate of casein and beef extract supply amino acids, nitrogen, minerals, vitamins, carbon and other nutrients which support the growth of microorganisms. Starch acts as a protective colloid against toxic molecules which can be present in the medium. Hydrolysis of starch during autoclaving supplies a little amount of glucose, which is a source of energy. Agar is the solidifying agent. Sheep blood is added to support the growth of fastidious organisms.

The Kirby-Bauer method is based on the diffusion, through the agar, of the antimicrobial substance which soaks the paper disc. Each disc has a single concentration of the antimicrobial agent that inhibits the microorganism growth showing an halo around the disc. The diameter of the inhibiting halo is correlated with the Minimal Inhibitory Concentration (MIC).

Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) is manufactured to contain low levels of thymine and thymidine and controlled levels of calcium and magnesium ions.

TEST PROCEDURE

1. Prepare a standardized suspension of the test organism using either the direct colony suspension or growth method.
2. Dip a sterile cotton swab into the adjusted suspension.
3. Inoculate the surface of the plate by streaking the swab over the entire agar surface.
4. Dispense antimicrobial discs onto the surface of the inoculated agar plate.
5. Incubate in an atmosphere of 5% CO₂ at 35 ± 2°C for 20-24 hours.

INTERPRETING RESULTS

After incubation measure the diameter of the zone of complete inhibition including the diameter of the disc. Interpret zone sizes with updated tables for the CLSI antimicrobial susceptibility testing standards and report the organism as susceptible, intermediate or resistant to the agents that have been tested. For streptococci, measure the diameter of the zone of growth inhibition, not of the zone of inhibition of hemolysis.

APPEARANCE

Opaque, cherry red.

STORAGE

2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

75 days.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table. Antibiotic discs are then promptly placed onto the agar surface.

Inoculum: 0.5 Mc Farland.

Incubation conditions: 5% CO₂ at 35 ± 2°C for 20-24 h.

QC Table.

Microorganism	Specification
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619	Zone diameters within the acceptable QC ranges indicated by the CLSI
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Zone diameters within the acceptable QC ranges indicated by the CLSI

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *In vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE









Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. CLSI M02-A12 (2015) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Twelfth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. CLSI M31-A3 (2008) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
3. CLSI M6-A2 (2006) Protocols for Evaluating Dehydrated Mueller-Hinton Agar; Approved Standard - Second Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
4. Barry, Garcia and Thrupp (1970) Am. J. Clin. Pathol. 53:149.
5. Ryan, Schoenknecht and Kirby (1970) Hospital Practice 5:91.
6. Bauer, Kirby, Sherris and Turck (1966) Am. J. Clin. Pathol. 45:493.

PRESENTATION	Contents	Ref.
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) 90 mm ready-to-use plates	20 plates	10131
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) 90 mm ready-to-use plates	100 plates	10131*
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) 140 mm ready-to-use plates	10 plates	11231
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) 120 mm square ready-to-use plates	5 plates	12032

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care	 Keep away from sunlight
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse	

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%)

Terreno per il test di sensibilità agli antimicrobici di alcuni organismi esigenti mediante la tecnica di diffusione in agar standardizzata dal CLSI.

DESCRIZIONE

Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) è un terreno raccomandato per il test di sensibilità agli antimicrobici di *Streptococcus* spp. and *Neisseria meningitidis*, mediante la tecnica di diffusione su dischetto (metodo Kirby-Bauer), come standardizzato dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

FORMULA TIPICA

	(g/l)
Estratto di Carne Bovina	2.0
Idrolizzato Acido di Caseina	17.5
Amido	1.5
Agar	17.0
Sangue di Montone, defibrinato	50 ml
pH Finale 7.3 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

L'idrolizzato acido di caseina e l'estratto di carne bovina forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi. L'amido agisce come un agente colloidale protettivo nei confronti di molecole tossiche eventualmente presenti nel terreno. L'idrolisi dell'amido durante la sterilizzazione in autoclave fornisce una piccola quantità di glucosio che è una fonte di energia. L'agar è l'agente solidificante.

Il metodo di Kirby-Bauer si basa sulla diffusione, attraverso l'agar, delle sostanze antimicrobiche di cui sono imbevuti dei dischetti di carta. Ciascun disco ha una definita concentrazione dell'agente antimicrobico che nell'inibire la crescita del microrganismo forma un alone attorno al disco stesso. Il diametro dell'alone di inibizione è correlato con la Concentrazione Minima Inibente (MIC).

Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%) contiene una bassa concentrazione di timina e timidina ed un livello controllato di ioni calcio e magnesio.

PROCEDURA DEL TEST

1. Preparare una sospensione standardizzata del microrganismo da testare utilizzando il metodo diretto di sospensione della colonia o il metodo di crescita batterica.
2. Immergere un tampone sterile nella sospensione con torbidità corretta.
3. Inoculare il terreno strisciando il tampone sull'intera superficie dell'agar.
4. Applicare i dischi antimicrobici sulla piastra inoculata
5. Incubare a 35 ± 2°C per 20-24 ore in atmosfera con 5% CO₂.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione misurare il diametro delle zone di completa inibizione, includendo il diametro del disco. Interpretare la dimensione degli aloni confrontandoli con i valori indicati nelle tabelle aggiornate fornite dal CLSI per il test di sensibilità agli antimicrobici e riportare l'organismo come sensibile, intermedio o resistente agli agenti testati. Per gli streptococchi, misurare il diametro della zona di inibizione della crescita, non quello della zona di inibizione dell'emolisi.

ASPETTO

Rosso ciliegia, opaco.

CONSERVAZIONE

2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

DURATA

75 giorni.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ. Subito dopo, sono posizionati i dischi antibiotici sulla superficie dell'agar.

Inoculo: 0.5 Mc Farland.

Condizioni di incubazione: 5% CO₂ a 35 ± 2°C per 20-24 ore.

Tabella CQ.

Micorganismo	Specifiche	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 49619	Diametri di inibizione all'interno dei range CQ accettati dal CLSI
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Diametri di inibizione all'interno dei range CQ accettati dal CLSI

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico in vitro e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.









BIBLIOGRAFIA

1. CLSI M02-A12 (2015) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Twelfth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
2. CLSI M31-A3 (2008) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
3. CLSI M6-A2 (2006) Protocols for Evaluating Dehydrated Mueller-Hinton Agar; Approved Standard - Second Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
4. Barry, Garcia and Thrupp (1970) Am. J. Clin. Pathol. 53:149.
5. Ryan, Schoenknecht and Kirby (1970) Hospital Practice 5:91.
6. Bauer, Kirby, Sherris and Turck (1966) Am. J. Clin. Pathol. 45:493.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%)	Piastre (90 mm) pronte all'uso	20 piastre	10131
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%)	Piastre (90 mm) pronte all'uso	100 piastre	10131*
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%)	Piastre (140 mm) pronte all'uso	10 piastre	11231
Mueller Hinton II Agar (Sheep Blood 5%)	Piastre quadrate (120 mm) pronte all'uso	5 piastre	12032

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura	 Tenere al riparo dalla luce
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare	

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net