

Agar Mueller Hinton con 5% de Sangre de Carnero

USO

Medio recomendado para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae*.

EXPLICACIÓN

Agar Mueller Hinton es un medio altamente recomendado para realizar las pruebas de susceptibilidad a agentes antimicrobianos de organismos aeróbicos de crecimiento rápido por el método de difusión en disco.

Kirby-Bauer, y otros desarrollaron un procedimiento estándar basado en el uso del Agar Mueller Hinton, medio originalmente desarrollado para el cultivo de *gonococcus*, 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. El procedimiento Kirby-Bauer se basa en la difusión de sustancias antimicrobianas en agar que se impregnan sobre discos de papel.

El CLSI por sus siglas en inglés (Clinical and Laboratory Standards Institute) recomendó su uso para la realización del antibiograma en medio sólido. El medio presenta bajo contenido en timina y timidina inhibidores de sulfonamidas y trimetoprim, esto permite un crecimiento satisfactorio de la mayoría de los patógenos.

En el medio el nitrógeno, las vitaminas, el carbono y los aminoácidos son aportados por la Infusión de carne y la Peptona de caseína H. El almidón es agregado para absorber cualquier metabolito tóxico. El agar bacteriológico es adicionado como agente solidificante. La sangre de carnero desfibrinada al 5% aporta factores de crecimiento para el desarrollo de *Streptococcus pneumoniae*.

FÓRMULA POR LITRO

Infusión de Carne	300.0 g	Almidón	1.5 g
Peptona de Caseína H	17.5 g	Agar bacteriológico	17.0 g
Sangre de carnero desfibrinada	50.0 mL		
pH 7.4 ± 0.2 a 25°C			

PREPARACIÓN

Método

Suspender 38 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar bien y calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C, adicionar asépticamente sangre de carnero desfibrinada al 5%. Vaciar en placas de Petri estériles.

Procedimiento

1. Inocular las placas estriando con un hispo impregnado previamente con una suspensión de un cultivo reciente del microorganismo indicado, ajustando al estándar de turbidez de 0.5 de Mc Farland o ajustar de 0.08 a 0.1 de absorbancia a 625nm (Consultar las referencias apropiadas para la técnica de susceptibilidad en placa por el método de difusión).
2. Colocar sobre el agar ejerciendo una ligera presión, los discos impregnados con los antibióticos indicado con ayuda de pinzas estériles o dispensador.
3. Incubar las placas en posición invertida durante 24 h a una temperatura de 35 + 2°C en atmósfera de aproximadamente 5 –10 % de CO₂.

CARACTERÍSTICAS

Resultados obtenidos se describen en la siguiente tabla:

AGENTE ANTIMICROBIANO	ESPECIFICACIÓN DIÁMETRO DE INHIBICIÓN <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	CRECIMIENTO	% DE RECUPERACIÓN
Oxacilina 1 µg	≤ 19 mm	Bueno	≥ 80%

PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
7644	Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas)	2-8°C
		

BIBLIOGRAFÍA

1. Koneman E. Allen S. 2008 Koneman diagnostic microbiológico: texto y atlas en color. Ed. Médica Panamericana. Pág. 210.
2. Forbes B.A. 2009 Diagnóstico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana. Pág. 1160.
3. Mueller, J.H., and Hinton. 1941. A protein free medium for primary isolation of gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Esp. Biol. Med. 48:330-333.
4. Bauer, A.L., W. M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.
6. Approved standard M7-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, PA.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Approved standard. M2-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, PA.
8. World Health Organization. 1961. Standardization of methods for conducting microbial sensitivity tests. Technical Report Series No. 210. Geneva.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993. Evaluating production lots of dehydrated Mueller-Hinton Agar. Tentative standard M6