

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl

Medium for susceptibility testing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Beef Extract	2.0
Acid Hydrolysate of Casein	17.5
Starch	1.5
Sodium Chloride	20.0
Agar	15.0
Final pH 7.3 ± 0.2	

DESCRIPTION

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl is a medium recommended for detection of methicillin resistance in *S. aureus* by using gradient strip method or disk diffusion.

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 any toxic molecules which may be present in the medium. Hydrolysis of the starch during autoclaving provides a small amount of glucose that is a source of energy. The presence of a high concentration of NaCl allows the growth of halophile staphylococci. Agar is the solidify agent.

This medium is manufactured to contain low levels of thymine and thymidine and controlled levels of calcium and magnesium ions.

The disk diffusion technique (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).

The gradient strip method is a quantitative assay which uses a predefined concentration gradient of antibiotic applied to the inoculated agar plate for determining the MIC and for resistance detection. After incubation, a symmetrical inhibition ellipse centred along the strip is formed and the MIC, given in µg/mL, is read directly from the scale at the point where the edge of the ellipse intersects the strip.

TECHNIQUE

1. Prepare a standardized suspension of the test organism by the direct colony suspension method.
2. Dip a sterile cotton swab into the adjusted suspension.
3. Inoculate the plate by streaking the swab over the entire agar surface.
4. Apply the disc/strip onto the surface of the inoculated agar plate.
5. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 18-48 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

Read according to the method being used and refer to either CLSI or EUCAST guidelines for interpretation of test results.

STORAGE

10-25°C away from light, until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

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 designed 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 the national and local regulations in force.

REFERENCES

1. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0, 2017.
2. CLSI (2017) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 27th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.0, 2017. <http://www.eucast.org>.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 7.0, 2017. <http://www.eucast.org>.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing - Disk diffusion method. Version 6.0.
6. CLSI M02-A12 (2015) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Twelfth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
7. Campos, Gill, Hare, Miller (1986) ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. Effect of NaCl Supplementation of Mueller Hinton Broth on Susceptibility of Staphylococci to Aminoglycosides.
8. Bauer et al. (1966) J. Clin. Pathol. 45:493-496.
9. Mueller, J.H., and Hinton (1941) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48: 330-333.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl

PRESENTATION

Ready-to-use plates (90 mm) containing 22 ± 1 ml of medium

STORAGE

10-25°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
11206	20 plates	10 plates in thermally soldered film 2 x 10 plates in cardboard box

pH OF THE MEDIUM

7.3 ± 0.2

USE

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl is a medium used for MRSA-testing by either disk or gradient diffusion

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Slightly opalescent, amber

SHELF LIFE

6 months

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Sterility control
7 days at $22 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosis
7 days at $35 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosis
- Microbiological control
Inoculum: McFarland 0.5
Incubation Conditions: 16-20 h at $35 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosis

Microorganism		Cefoxitin MTS MIC ($\mu\text{g/mL}$)	Interpretation
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 29213	1-4	Sensible
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 43300	>4	Resistant

TABLE OF SYMBOLS

LOT	Batch code	IVD	In vitro Diagnostic Medical Device		Manufacturer		Use by		Fragile, handle with care
REF	Catalogue number		Temperature limitation		Contains sufficient for >n tests		Caution, consult instructions 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 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl

Terreno per il test di sensibilità per ceppi di *Staphylococcus aureus* resistenti alla meticillina (MRSA).

FORMULA TIPICA	(g/l)
Estratto di Carne	2.0
Idrolizzato Acido di Caseina	17.5
Amido	1.5
Cloruro di Sodio	20.0
Agar	15.0
pH Finale 7.3 ± 0.2	

DESCRIZIONE

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl è un terreno raccomandato per la ricerca di *S. aureus* resistente alla meticillina utilizzando il metodo del gradiente su striscia o di diffusione su disco.

PRINCIPIO

L'idrolizzato acido di caseina e l'estratto di carne forniscono amminoacidi, azoto, minerali, vitamine, carbonio ed altri nutrienti che sostengono la crescita dei microrganismi. L'amido agisce da sostanza protettiva contro eventuali molecole tossiche che possono essere presenti nel terreno. L'idrolisi dell'amido nel corso della sterilizzazione fornisce un piccolo quantitativo di glucosio che costituisce una fonte di energia. La presenza di NaCl ad elevata concentrazione permette la crescita degli stafilococchi alofili. L'agar è l'agente solidificante.

Il terreno contiene basse concentrazioni di timina e timidina e un livello controllato di ioni calcio e magnesio.

La tecnica di diffusione su disco (metodo Kirby-Bauer) si basa sulla diffusione attraverso l'agar di sostanze antimicrobiche con cui sono impregnati i dischetti di carta: ciascun disco contiene una singola concentrazione dell'agente antimicrobico che inibisce la crescita dei microrganismi causando la formazione di un alone intorno al disco stesso. Il diametro dell'alone d'inibizione è correlato con la minima concentrazione inibente (MIC).

Il metodo del gradiente su striscia è un esame quantitativo che utilizza un gradiente dell'antibiotico in concentrazioni predefinite applicato sulla piastra inoculata per determinare la MIC e ricercare le resistenze. Dopo l'incubazione, si forma un'ellisse di inibizione simmetrica centrata lungo la striscia ed il valore di MIC, dato in $\mu\text{g/mL}$, viene letto direttamente sulla scala nel punto in cui il margine dell'ellisse interseca la striscia.

TECNICA

1. Preparare una sospensione standardizzata del microrganismo da testare con il metodo di sospensione diretta della colonia.
2. Immergere un tampone sterile nella sospensione
3. Inoculare la piastra strisciando il tampone sull'intera superficie dell'agar.
4. Applicare il dischetto/striscia sulla superficie della piastra inoculata.
5. Incubare a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-48 ore in atmosfera aerobica.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Leggere i risultati del test secondo il metodo in uso e far riferimento alle linee guida CLSI o EUCAST per l'interpretazione.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

$10-25^\circ\text{C}$ al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0, 2017.
2. CLSI (2017) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 27th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.0, 2017. <http://www.eucast.org>.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 7.0, 2017. <http://www.eucast.org>.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing - Disk diffusion method. Version 6.0.
6. CLSI M02-A12 (2015) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - Twelfth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
7. Campos, Gill, Hare, Miller (1986) ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. Effect of NaCl Supplementation of Mueller Hinton Broth on Susceptibility of Staphylococci to Aminoglycosides.
8. Bauer et al. (1966) J. Clin. Pathol. 45:493-496.
9. Mueller, J.H., and Hinton (1941) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48: 330-333.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl

PRESENTAZIONE

Piastre pronte da 90 mm contenenti 22 ± 1 ml di terreno

CONSERVAZIONE

10-25°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
11206	20 piastre	• 10 piastre in film bisaldante, saldato termicamente • 2 x 10 piastre in scatola di cartone

pH DEL TERRENO

7.3 ± 0.2

IMPIEGO

Mueller Hinton II Agar + 2% NaCl è un terreno utilizzato per il test MRSA mediante diffusione su disco o a gradiente

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Ambra, leggermente opalescente

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

6 mesi

CONTROLLO DI QUALITÀ

1. Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
2. Controllo sterilità
7 giorni a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosi
7 giorni a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosi
3. Controllo microbiologico
Inoculo: 0.5 McFarland
Condizioni di incubazione: 16-20 ore a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ in aerobiosi

Microrganismo		Cefoxitin MTS MIC ($\mu\text{g/mL}$)	Interpretazione
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 29213	1-4	Sensibile
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 43300	>4	Resistente

TABELLA DEI SIMBOLI

 LOT	Numero di lotto	 IVD	Per uso diagnostico <i>in vitro</i>		Fabbricante		Data di scadenza		Fragile, maneggiare con cura
 REF	Numero di catalogo		Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> test		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 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

