



Referencia : 01-706

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

Agar Base para Prueba de *Haemophilus*

### Sinonimia

HTM Agar, Haemophilus Test Medium Agar Base.

### Especificación

Medio de cultivo sólido para los ensayos de susceptibilidad de *Haemophilus influenzae* y *H. parainfluenzae* frente a antibióticos y otros antimicrobianos por la técnica de difusión en agar.

### Fórmula \* en g/L

Peptona.....	17,500
Sólidos de infusión de carne.....	2,000
Almidón.....	1,500
Extracto de levadura.....	5,000
Agar.....	17,000

pH final a 25°C 7,3 ± 0,1

\*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

### Reconstitución

Suspender 21,5 g del polvo en 500 mL de agua destilada. Calentar suavemente hasta ebullición y total disolución. Esterilizar al autoclave a 121°C durante 15 minutos. Enfriar hasta 45-50°C y añadir asépticamente el contenido de un vial del Suplemento de crecimiento *Haemophilus* (HTM) Ref. 06-155-LYO. Homogeneizar la mezcla y distribuir asépticamente en placas de Petri.

### Descripción

Los miembros del género *Haemophilus* son bacterias muy exigentes que requieren medios de cultivo muy complejos para su crecimiento. La complejidad de esos medios complica la realización de los ensayos de sensibilidad ya que con frecuencia aparecen antagonismos entre algunos nutrientes esenciales y ciertos agentes antimicrobianos, que dificultan tanto la lectura como la reproducibilidad de los resultados.

El HTM Agar Base de Scharlau Microbiology se ha formulado de acuerdo a la propuesta de Jorgensen y cols. que, en los EUA, ha sido adoptada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y aprobada oficialmente por el American National Standards Institute (ANSI). En la composición del medio se han empleado ingrediente con un bajo nivel de antagonistas de los antimicrobianos, por lo cual los ensayos con sulfamidas se pueden verificar con un amplio margen de confianza. La transparencia de este medio permite una fácil lectura de los halos de inhibición a través del fondo de la placa.



Referencia : 01-706

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto :

Agar Base para Prueba de *Haemophilus*

### Técnica

A partir de colonias discretas de *Haemophilus*, crecidas sobre agar chocolate durante 20-24 horas, se prepara una suspensión de células en Caldo Mueller Hinton (Ref. 02-136) o en Solución de Ringer 1/4 (Ref. 06-073) y se ajusta la concentración celular al patrón McFarland 0,5, que corresponde aproximadamente a  $1-4 \times 10^8$  UFC/mL. La preparación de esta suspensión para el inóculo debe ser cuidadosa ya que concentraciones mayores pueden ocasionar falsos resultados de resistencia frente a antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos y si la concentración es inferior a la especificada el crecimiento no es confluyente y dificulta la lectura de resultados. La suspensión celular debe desecharse como inóculo si no se usa durante los 15 minutos siguientes a su ajuste de concentración.

Las placas se inoculan restregando un escobillón humedecido con la suspensión celular, de acuerdo a la técnica de Ericsson y se dejan secar durante 3-5 minutos antes de depositar sobre la superficie los discos de antimicrobianos, que no deben ser más de 4 por placa de 100 mm de diámetro.

Las placas se incuban a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  en atmósfera de 5 % de  $\text{CO}_2$  durante 18-20 horas antes de leer los halos de inhibición.

Para detalles metodológicos se remite al técnico a las normativas referenciadas.

### Control de calidad

**Temperatura de incubación:**  $35^\circ\text{C} \pm 2,0$

**Tiempo de incubación :** 18-20h

**Inóculo:** Siembra por cultivo masivo en superficie y añadir discos de antibiótico según CLSI

#### Microorganismo

#### Crecimiento

#### Observaciones

*Haemophilus influenzae* ATCC 10211

Bueno

-

*Haemophilus influenzae* ATCC 49766

Bueno

-

### Bibliografía

BAUER, A.W., W.M.M. KIRBY, J.C. SHERRIS & M. TURCK (1966) Antibiotic Susceptibility Testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45:493-496

ERICSSON, H.M. & J.C. SHERRIS (1971) Antibiotic Sensitivity Testing. Report of an internal collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 217(Suppl B):1-90

JORGENSEN, J.H., J.S. REDDING, L.A. MAHER & A.W. HOWELL (1987). Improved medium for antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. J. Clin. Microbiol. 25:2105-2113

CLSI (2006) Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility Tests; Approved Standard - 9th Edition. Document M2-A9, Vol. 23, No. 1

CLSI (2008) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 8th Informational Supplement. Document M-100 S-18 Vol. 28, No. 1.

### Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre  $4^\circ\text{C}$  y  $30^\circ\text{C}$ , con humedad relativa menor del 60%).