

# MUELLER HINTON II AGAR (selon EUCAST)

## NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRÊT À L'EMPLOI

### 1. Utilisation prévue

La gélose Mueller Hinton II (selon EUCAST) est un milieu conçu pour tester la sensibilité aux médicaments selon les procédures EUCAST par la méthode de diffusion sur gélose et les mécanismes de résistance de bactéries aérobies non antibiotiques isolées à partir d'échantillons cliniques humains.

Le milieu est destiné à soutenir le processus de diagnostic en déterminant le profil de sensibilité / résistance aux antimicrobiens des bactéries isolées à partir d'échantillons cliniques prélevés sur des patients.

Les informations sur le profil de sensibilité aux médicaments antimicrobiens utilisés dans le traitement des infections et la détermination du mécanisme de résistance de l'agent pathogène détecté dans un échantillon clinique permettent de prendre la bonne décision individuelle pour le patient concernant le choix d'une antibiothérapie appropriée et efficace. La méthode de diffusion sur disque selon EUCAST est basée sur la méthode décrite par l'International Collaborative Study of Antimicrobial Sensceptibility Testing en 1972. En raison de sa simplicité d'exécution, cette méthode est la méthode la plus largement utilisée pour tester la sensibilité bactérienne aux médicaments dans les laboratoires médicaux. L'exécution correcte et normalisée du test selon la méthode EUCAST et l'obtention de résultats fiables nécessitent l'utilisation de cette méthode sans modification, y compris l'utilisation du milieu spécifié par EUCAST.

Référence :	Type de milieu :	Emballage:
1051 PD90	Boîte de gélose précoulée, prêt à l'emploi	1 x 10 pièces (90 mm)
4006 PD140	Boîte de gélose précoulée, prêt à l'emploi	1 x 5 pièces (140 mm)

### 2 Principe de procédure

L'extrait de bœuf et l'hydrolysate acide de caséine sont des sources d'azote, de vitamines, de carbone et d'acides aminés. L'amidon de maïs absorbe les déchets métaboliques toxiques. La gélose agit comme un agent solidifiant.

Les tests de sensibilité aux micro-organismes aux médicaments doivent être effectués par la méthode de diffusion sur disque conformément aux recommandations actuelles de l'EUCAST.

La méthode de diffusion sur disque utilise le phénomène du gradient de concentration qui se forme dans un milieu solide lorsqu'un médicament antimicrobien se diffuse à partir d'un disque de papier buvard et inhibe la croissance des micro-organismes inoculés sur le milieu autour du périmètre du disque. Le diamètre de la zone de croissance inhibée est mesuré en millimètres, puis comparé à la valeur limite correspondante spécifiée dans les recommandations EUCAST pertinentes. Cette comparaison permet de classer le micro-organisme testé dans une catégorie appropriée de sensibilité aux médicaments antimicrobiens spécifiques utilisés dans le test. Afin de reconnaître divers mécanismes de résistance, plusieurs disques de buvard contenant des antibiotiques/médicaments antimicrobiens spécifiques sont disposés sur le milieu. Les formes et tailles caractéristiques des zones résultantes de croissance bactérienne inhibée permettent de déterminer la présence et le type de mécanisme de résistance de l'agent pathogène testé.

### 3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée:	
Hydrolysate de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Extrait de bœuf	2,0 g
Gélose	17,0 g

pH 7,3± 0,1 à 25°C.

Aspect du milieu : Milieu homogène, de couleur paille claire

#### 4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Porter le milieu à température ambiante immédiatement avant utilisation

#### 5. Equipement requis, non fourni

Équipement et réactifs nécessaires au test (par exemple solution saline, écouvillons stériles, disques de buvard imbibés d'antibiotiques) et équipement de laboratoire de microbiologie standard, y compris un densitomètre bactériologique ou un étalon de densité, un incubateur et une règle ou un autre appareil pour mesurer les zones de croissance inhibée.

#### 6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale, qui peuvent être contaminés par des agents pathogènes biologiques, et doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation des matières biologiques potentiellement infectieuses.
- Ne pas utiliser le milieu si celui-ci présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser les boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes après la date d'expiration.
- La ré incubation de boîtes précédemment inoculées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivez ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans cette présente notice, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

#### 7. Stockage

Conservez les boîtes entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Entreposer les boîtes de substrat dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter le gel, ne stocker pas les boîtes près des murs du réfrigérateur. Pour éviter la condensation de l'eau sur le couvercle de la boîte, n'ouvrez pas le réfrigérateur plus que nécessaire et ne conservez pas les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

#### 8. Date d'expiration

Le milieu stocké à 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à compter de la date de production.

#### 9. Types d'échantillons

Le matériel utilisé pour les tests est constitué de cultures pures, datant d'environ 16 à 24 heures, de souches bactériennes pathogènes isolées sur des milieux solides à partir de divers échantillons cliniques humains.

#### 10. Procédure du test

Les procédures et directives EUCAST actuelles doivent être strictement respectées afin de garantir des résultats corrects et fiables des tests de sensibilité par diffusion sur disque.

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.

2 **Préparation d'inoculum.** Préparer une suspension de la souche testée à une densité de 0,5 sur l'échelle de McFarland en suspendant les colonies dans une solution saline. Prélever les colonies à l'aide d'une anse stérile ou d'un écouvillon sur un milieu non sélectif, après 18 à 24 heures de culture. Sélectionner quelques colonies morphologiquement similaires. Déterminer la densité de l'inoculum à l'aide d'un densitomètre bactériologique. La densité de la suspension peut également être déterminée en comparant macroscopiquement la densité de la suspension de la souche testée avec un étalon de densité McFarland de 0,5. Dans ce cas, la turbidité de la suspension de la souche testée par rapport à l'étalon de densité doit être comparée sur un fond blanc avec des bandes noires.

**La suspension préparée de la souche à tester doit être utilisée dans les 15 minutes, mais au plus tard 60 minutes après la préparation.**

**3 Préparation de la pelouse bactérienne.** Plongez un coton-tige stérile dans la suspension préparée de la souche à tester. Pour les bactéries à Gram négatif, afin d'éviter une inoculation excessive, retirez l'excès de suspension de l'écouvillon en le pressant contre l'intérieur du tube. Pour les bactéries à Gram positif, il n'est pas nécessaire d'éliminer l'excédent. Les milieux peuvent être inoculés manuellement ou avec un inoculateur automatique. Répartir la suspension uniformément sur toute la surface de la gélose, en vous assurant qu'il n'y ait pas d'espaces entre chaque bande, ce qui est particulièrement important pour les bactéries à Gram positif.

**4 Appliquer les disques antibiotiques.** Appliquer des antibiotiques sur la surface de la gélose. Les disques doivent être appliqués sur le milieu dans les 15 minutes suivant l'inoculation. Appuyez légèrement sur les disques, qui doivent adhérer complètement à la surface de la gélose. Une fois appliqués, les disques ne doivent pas être déplacés, en raison de la diffusion rapide de l'antibiotique du disque dans le milieu. Le nombre de disques sur la boîte doit être limité, de sorte que les zones d'inhibition résultantes ne se chevauchent pas et que les antibiotiques individuels n'interagissent pas les uns avec les autres. Un maximum de 6 disques antibiotiques peut être appliqué sur une boîte de 90 mm de diamètre.

**5 Incubation.** Incuber les boîtes dans des conditions aérobies à température et pendant la durée spécifiées dans les procédures EUCAST en fonction du micro-organisme à tester. Les boîtes doivent être placées sur gélose côté vers le bas, afin d'éviter que des antibiotiques ne tombent de la surface de la gélose. L'incubation des boîtes doit commencer dans les 15 minutes suivant l'application des disques. Les boîtes ne doivent pas être incubées plus longtemps que recommandé.

**Des lignes directrices détaillées pour la sélection des médicaments antibactériens et la réalisation d'antibiogrammes par la méthode de diffusion sur disque sont énoncées dans les procédures EUCAST actuelles.**

## 11. Lecture et interprétation

Après incubation :

- Mesurer le diamètre des zones d'inhibition de croissance conformément aux procédures EUCAST actuelles à l'aide d'une règle ou d'un autre appareil de mesure. La mesure doit être exprimée en millimètres.
- Interpréter les mesures obtenues sur la base des procédures EUCAST en vigueur, en attribuant la catégorie de sensibilité appropriée à chaque médicament utilisé.

Lors de l'analyse des mécanismes de résistance d'un agent pathogène, la taille et la forme caractéristique des zones de croissance bactérienne inhibée doivent également être évaluées.

## 12. Contrôle qualité

Effectuer un contrôle de la qualité moyenne à une fréquence et d'une manière compatibles avec les procédures EUCAST en vigueur pour le contrôle de la qualité de la méthode de diffusion du disque et des procédures de laboratoire.

Des souches de référence qui garantissent la cohérence des mesures conformément aux procédures EUCAST doivent être utilisées pour effectuer des tests de contrôle de la qualité.

## 13 Limites de la méthode

- Pour l'antibiogramme des bactéries fastidieuses, utilisez le milieu Mueller Hinton avec du sang de cheval et 20 mg / l de NAD (MH-F).
- De nombreux facteurs peuvent affecter la taille des zones d'inhibition et les résultats de l'antibiogramme, tels que la densité de suspension bactérienne, le taux de croissance, la composition du milieu et le pH.
- Les antibiogrammes par la méthode de diffusion sur disque ne doivent être effectués qu'avec des cultures bactériennes pures d'environ 16 à 24 heures,
- Si la densité d'inoculum est trop élevée, elle peut réduire la zone d'inhibition, et si elle est trop faible, elle peut augmenter la taille des zones d'inhibition de la croissance et rendre leur mesure difficile.
- Le fait de laisser les plaques inoculées à température ambiante pendant une période plus longue que celle recommandée avant d'appliquer les disques peut provoquer une prolifération microbienne, entraînant une diminution du diamètre des zones d'inhibition de la croissance. Il est donc important de respecter la règle des 15-15-15 : la suspension doit être utilisée dans les 15 minutes suivant sa préparation, les disques doivent être appliqués dans les 15 minutes suivant l'inoculation de la plaque et l'incubation de la plaque doit commencer dans les 15 minutes suivant l'application du disque.

- Une mauvaise conservation des disques peut affecter la stabilité des antibiotiques qu'ils contiennent, ce qui peut réduire le diamètre des zones d'inhibition et peut être une source d'erreurs d'interprétation dans l'évaluation de la sensibilité aux médicaments de l'agent pathogène étudié.
- La façon dont les piles de tuiles sont disposées dans l'incubateur, en raison d'un chauffage inégal, est un facteur important qui influe sur le résultat du test. Il est recommandé de ne pas dépasser 5 tuiles par pile.
- Un rétrécissement excessif du milieu dû à un stockage inadéquat peut entraîner de faux résultats indiquant la présence d'une sensibilité.
- Une mauvaise disposition des disques d'antibiotiques pour tester la présence de mécanismes de résistance peut entraîner des résultats incorrects.

#### 14. Caractéristiques de la méthode

Présenté dans les documents EUCAST et la littérature disponible.

#### 15. Élimination du matériel utilisé

Le matériel utilisé et non utilisé doit être éliminé conformément à la réglementation en vigueur en matière de traitement des déchets médicaux et aux procédures de laboratoire relatives à l'élimination du matériel infectieux et potentiellement infectieux.

#### 16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements indésirables et les incidents qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être signalés au fabricant et aux autorités compétentes.

#### 17 Références

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris et M. Turek. 1966. Antibiotic sensibility testing by a standardized single disk method. *Député J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
2. Matuschek, E., D.F. Brown et G. Kahlmètre. Développement de la méthode EUCAST de test de sensibilité aux antimicrobiens par diffusion sur disque et sa mise en œuvre dans les laboratoires de microbiologie de routine. *Clin. Microbiol. Infecter.* 2014; 20 (4): 255-66.
3. Ryan, K.J., F.D. Schoenknecht et W.M.M. Kirby. 1970. Test de sensibilité du disque. *Hospital Practice* 5:91-100.
4. Barry, A.L., F. Garcia et L.D. Thrupp. 1970. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapid-growing pathogens. *Député J. Clin. Pathol.* 53:149-158.
5. Mueller, J.H., et J. Hinton. 1941. Un milieu sans protéines pour l'isolement primaire du gonocoque et du méningocoque. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 48:330-333.
6. Ericsson, H.M., et J.C. Sherris. 1971 Tests de sensibilité aux antibiotiques. Rapport d'une étude collaborative internationale. *Acta Pathol. Microbiol. B, Suppl.* 217.
7. EUCAST Test de sensibilité aux antimicrobiens Méthode de diffusion sur disque EUCAST, version actuelle disponible à <http://www.eucast.org>.
8. Woods, G.L., et J.A. Washington. 1995. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods, p. 1327-1341. Dans P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover et R.C. Tenover (éd.), *Manuel de microbiologie clinique*, 6e éd. American Society for Microbiology, Washington, DC.
9. Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens. Tables de points d'arrêt pour l'interprétation des CMI et des diamètres de zone. Recherchez la dernière version sur <http://www.eucast.org>.
10. Thornsberry, C., T.L. Gavan et E.H. Gerlach. 1977. Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent sensibility testing. Éd. coordonnatrice, J.C. Sherris. Société américaine de microbiologie, Washington, DC.
11. Reller, L.G., F.D. Schoenknecht, M.A. Kenny et J.C. Sherris. 1974. Antibiotic sensibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. *J. Infecter.* 130:454-463.
12. Pollock, H.M., B.H. Minshew, M.A. Kenny et F.D. Schoenknecht. 1978. effet de différents lots de gélose Mueller-Hinton sur l'interprétation de la sensibilité à la gentamicine de *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. agents Chemother.* 14:360-367.
13. D'Amato, R.F., et C. Thornsberry. 1979. calcium and magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. *Microbiol actuel.* 2:135-138.
14. Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens. Contrôle de qualité interne de routine et étendu pour la détermination du MIC et la diffusion du disque, conformément aux recommandations d'EUCAST. Recherchez la dernière version sur <http://www.eucast.org>. 15. Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens. Contrôle de qualité interne de routine et étendu pour la détermination du MIC et la diffusion du disque, conformément aux recommandations d'EUCAST. <http://www.eucast.org>.

15. Wegner, D.L., C.R. Mathis et T.R. Neblett. 1976. Méthode directe pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques des agents pathogènes du sang à croissance rapide. *Antimicrobe. Agents Chemother.* 9:861-862.
16. Baker, C.N., C. Thornsberry et R.W. Hawkinson. 1983. Inoculum standardisation in antimicrobial sensibility testing: evaluation of overnight gélor cultures and the rapid inoculum standardization system. *J. Clin. Microbiol.* 17:450-457.
17. Murray, B.E. 1990 La vie et l'époque de l'entérocoque. *Clin. Microbiol. Apocalypse* 3:46-65.
18. Neumann, M.A., D.F. Sahm, C. Thornsberry, J.E. McGowan, Jr. Cumitech 6A, Nouveaux développements dans les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens: un guide pratique. Édition coordonnée par J.E. McGowan, Jr. American Society of Microbiology, Washington, D.C.1991.

#### Historique des modifications apportées aux documents

Date du changement	Section	Description du changement
02/02/2023	Document entier	Adaptation aux exigences du règlement UE 2017/746

#### NOTE

**L'historique des révisions du document n'inclut pas les modifications rédactionnelles.**

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant de l'instrument médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé.	5.1.3
	N° de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Code de lot	Indique le code de lot du fabricant afin que le lot ou le lot puisse être identifié.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un instrument médical destiné à être utilisé comme instrument médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un instrument médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Contient suffisamment de tests <n>	Indique le nombre total de tests pouvant être effectués avec l'instrument médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle l'instrument médical ne doit plus être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Indique que les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Respect des exigences de l'UE)	Le marquage CE sur un produit est une déclaration du fabricant attestant que le produit est conforme aux exigences essentielles des réglementations pertinentes de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	Nd.
	Consultez le mode d'emploi ou consultez le mode d'emploi électronique	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter le mode d'emploi.	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptique	Indique un instrument médical qui a été fabriqué à l'aide de techniques aseptiques acceptées.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi	Indique qu'un instrument médical qui ne devrait pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur devrait consulter le mode d'emploi pour obtenir des renseignements sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un instrument médical qui contient des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale	5.4.8




Graso Zenon Sobiecki  
Cercle 4A; 83-200 Starogard Gdanski  
[www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)  
Téléphone + 48 (58) 562 30 21

Division de production  
Leśna 1, Owidz  
83-211 Jablowo

