

Mueller Hinton Agar

IVD

USO

Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

FUNDAMENTO

Medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) antiguamente llamado National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a sus múltiples ventajas y a una gran cantidad de evidencia científica que avala el uso de este medio de cultivo:

- presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad,
- su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo,
- la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente. Cuando se suplementa con sangre de carnero al 5%, permite realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos. También, con el agregado de sangre puede utilizarse para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0213705: envase x 100 g.

Código B0213706: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

INFUSIÓN DE CARNE.....	300.0
PEPTONA ÁCIDA DE CASEÍNA.....	17.5
ALMIDÓN.....	1.5
AGAR.....	15.0
pH FINAL: 7.3 ± 0.1	

Nota: la infusión de carne es equivalente a 3 g de polvo.

INSTRUCCIONES

Suspender 37 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Dejar embeber de 10 a 15 minutos. Calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 minuto para disolución total. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°-50°C y distribuir en placas de Petri estériles, en volumen apropiado para que el espesor sea de 4 mm sobre una superficie horizontal (25-30 ml en placas de 9 cm de diámetro).

Previo a su distribución en placas de Petri, puede ser suplementado con 5% de sangre ovina desfibrinada estéril (**Britasheep**) preparándose así Mueller Hinton Sangre Agar.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar claro.

Suplementado con sangre: color rojo cereza.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Hisopado en superficie.

El inóculo microbiano dependerá del grupo microbiano o microorganismo en estudio.

Incubación

La atmósfera, el tiempo y temperatura de incubación dependerán del grupo microbiano o microorganismo en estudio.

GRUPO MICROBIANO MICROORGANISMO	INÓCULO MICROBIANO	INCUBACIÓN
Enterobacterales Pseudomonas aeruginosa	Crecimiento en medio líquido o suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2 °C durante 16 a 18 horas
Enterococcus spp.	Crecimiento en medio líquido o suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2 °C durante 16 a 18 horas. Si se ensaya el disco de vancomicina 30 ug incubar 24 horas.
Acinetobacter spp. Burkholderia cepacia Stenotrophomonas maltophilia	Crecimiento en medio líquido o suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2 °C durante 20 a 24 horas.
Staphylococcus spp.	Suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis, a 35 ± 2 °C durante 16 a 18 horas. En el caso que se ensayen los discos de cefoxitina, con Staphylococcus coagulasa negativa y en todos los casos al ensayar oxacilina y vancomicina, incubar las placas durante 24 horas.
Vibrio cholerae	Suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En aerobiosis a 35 ± 2 °C durante 16 a 18 horas.
Streptococcus pneumoniae Streptococcus grupo viridans Streptococcus spp. Grupo Beta Hemolítico.	Suspensión directa de la colonia equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland.	En atmósfera con 5 % de CO ₂ , a 35 ± 2 °C durante 20 a 24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Los lotes de agar Mueller Hinton Britania cumplen con las normas descritas en el documento M6 - P del NCCLS: "Evaluating production lots of dehydrated Mueller Hinton agar". Esto es muy importante pues algunos lotes pueden variar significativamente y si las bacterias no crecen adecuadamente, las zonas de inhibición en las pruebas de difusión son generalmente más grandes, quedan fuera de los límites de control de calidad y pueden llevar a resultados erróneos.
- Los medios que contienen cantidades excesivas de timidina o timina pueden revertir el efecto inhibitorio de las sulfonamidas y trimetoprima, produciendo así zonas de inhibición mas pequeñas y por lo tanto informes de falsa resistencia. Para evaluar el contenido de timidina del lote de agar Mueller Hinton, se utiliza la cepa de control de calidad: Enterococcus faecalis ATCC 29212 frente a discos de

TMS. En un medio satisfactorio, se produce una zona clara de inhibición del desarrollo de diámetro 20 mm o mayor.

- Otro aspecto de cuidado en el control de calidad en el agar Mueller Hinton es que las variaciones en cationes divalentes principalmente calcio y magnesio pueden afectar los resultados con tetraciclina, polimixina y aminoglucósidos cuando se ensayan cepas de Pseudomonas spp. Por tal motivo, se deben cumplir los límites de control de calidad publicados por el CLSI.
- Los resultados deben ser cuidadosamente observados con todos los organismos de control para evitar datos aberrantes debido al medio de cultivo. Para aquellas cepas que no puedan crecer satisfactoriamente en el Agar Mueller Hinton no suplementado, se agrega sangre desfibrinada de carnero al agar fundido y enfriado, en concentración final al 5% (v/v).

CONTROL DE CALIDAD

Para el control de precisión y exactitud del Mueller Hinton Agar se usan las siguientes cepas control:

- Escherichia coliATCC 25922
- Staphylococcus aureus.....ATCC 25923
- Pseudomonas aeruginosa.....ATCC 27853
- Enterococcus faecalis.....ATCC 29212
- Klebsiella pneumoniaeATCC 700603

Para evaluar el desempeño de inhibidores de enzimas beta lactamasas en Mueller Hinton Agar, se utiliza la cepa control:

- Escherichia coliATCC 35218

Para el control de precisión y exactitud del Mueller Hinton Sangre Agar se utiliza la cepa control:

- Streptococcus pneumoniaeATCC 49619

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

La evaluación de Staphylococcus a temperaturas mayores a 35 °C puede no detectar cepas meticilino resistentes.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Bauer, Kirby, Sherris and Turck. 1966. Am. J. Clin. Pathol. 45:493.
- Isenberg (ed.). 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook, volume 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, versión vigente. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, ex NCCLS).

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento. Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

AUTORIZACIÓN ANMAT

PM -1292 - 45
Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE VENCIMIENTO



LÍMITE DE TEMPERATURA



INSTRUCCIONES DE USO