

## MUELLER HINTON AGAR

REF B0413784  
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) 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 B0413784 6 frascos x 50 ml

#### FÓRMULA

INFUSIÓN DE CARNE	300.0 G
PEPTONA ÁCIDA DE CASEÍNA	17.5 G
ALMIDÓN	1.5 G
AGAR	15.0 G
AGUA PURIFICADA	1000 ML
pH final: 7.3 ± 0.1	

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

La fórmula puede ser ajustada y/o suplementada para cumplir los criterios de desempeño y aceptación de producto, cumpliendo su uso previsto.

### INSTRUCCIONES

Colocar los frascos cerrados en baño maría y llevar a ebullición para fundir el medio de cultivo sólido contenido en los mismos.

Una vez que se ha fundido el medio de cultivo, retirar cuidadosamente los frascos del baño maría y dejar enfriar.

Cuando alcanzan temperatura 45-50 °C, abrirlos y distribuir asépticamente en placas de Petri, en cantidad suficiente para que el espesor del medio de cultivo se encuentre entre 3,5 a 4,5 mm por placa (para placas de Petri de 9 cm de diámetro corresponden entre 25 a 30 mL de medio de cultivo).

**Preparación de Mueller Hinton Sangre Agar:** agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril (REF Britasheep) al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

### CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo color ámbar claro.

En caso de ser suplementado con sangre ovina: color rojo cereza.

### ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo listo para usar en frascos 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
Enterobacterias 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 ceftioxitina, 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 <sub>2</sub> , a 35 ± 2 °C durante 20 a 24 horas.

Consultar en bibliografía de referencia según el microorganismo en cuestión.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

- Los lotes de agar Mueller Hinton Britania cumplen con las normas descriptas en el documento CLSI M6 "Protocols For Evaluating 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 trimetoprima 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:

Staphylococcus aureus	ATCC 25923
Escherichia coli	ATCC 25922
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853
Enterococcus faecalis	ATCC 29212
Klebsiella pneumoniae	ATCC 700603

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

Escherichia coli	ATCC 35218
------------------	------------

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

Streptococcus pneumoniae	ATCC 49619
--------------------------	------------

**CONTROL DE ESTERILIDAD**

MEDIO SIN INOCULAR	RESULTADO
	SIN CAMBIO

**LIMITACIONES**

La evaluación de Staphylococcus a temperaturas mayores a 35 °C puede no detectar cepas meticilino resistentes. Consultar en bibliografía de referencia la metodología apropiada.

**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 Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. M02 (última versión vigente). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, (última versión vigente). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

**INDICACIONES AL CONSUMIDOR**

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

**AUTORIZACIÓN ANMAT**

PM 1292-24  
Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

**SÍMBOLOS UTILIZADOS**

 <b>IVD</b> DIAGNÓSTICO IN VITRO	 <b>REF</b> CÓDIGO N°	 <b>LOT</b> LOTE N°	 <b>STERILE</b> ESTÉRIL
 <b>ELABORADOR</b>	 <b>N° DE DETERMINACIONES</b>	 <b>INSTRUCCIONES DE USO</b>	 <b>FECHA DE VENCIMIENTO</b>
			 <b>LÍMITE DE TEMPERATURA</b>