

INSTRUÇÕES DE USO**AGAR MUELLER HINTON II**

Meio recomendado para o teste de sensibilidade de antibióticos e isolamento primário

Descrição

O AGAR MUELLER HINTON II é recomendado para o teste de sensibilidade a antibióticos e para o isolamento primário de gonococos, meningococos e outros patógenos de amostras clínicas.

Composição

Fórmula em g/L	
Peptona de caseína ácia (H)	17,5
Ágar bacteriológico	17
Infusão de carne bovina	2
Amido	1,5
pH 7,4 ± 0,2 a 25°C	

Preparação

Suspender 38 gramas do meio em um litro de água destilada. Misture bem e dissolva por aquecimento com agitação constante. Ferva por um minuto até completa dissolução. Dispense em recipiente apropriado e esterilize em autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfrie até 45-50°C e adicione sangue desfibrinado, se desejado. A mistura de sangue deve ser chocolatada por aquecimento a 80°C durante 10 minutos se for desejado o desenvolvimento de Neisseria. NÃO SUPERAQUECER. Para derreter o meio frio novamente, aqueça tão breve possível.

Usos

O Agar Mueller Hinton II foi originalmente desenvolvido para o cultivo e isolamento de estirpes patogênicas de Neisseria. Foi descoberto que este meio era útil na identificação de estirpes de gonococos sulfonimida resistente e responsiva. Contudo, o Agar Mueller Hinton atualmente é utilizado no teste em discos de susceptibilidade à antibióticos.

Bauer e Kirby desenvolveram um procedimento padronizado para a determinação da susceptibilidade de bactérias aos antibióticos, em que o Ágar Mueller Hinton foi selecionado como meio teste, pelo fato de vários laboratórios clínicos nos anos 60 estavam utilizando uma grande variedade de meios e procedimentos. Sua performance é especificada pelo CLSI (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais), sendo recomendado para o teste de bactérias aeróbicas de crescimento rápido, patógenos bacteriológicos anaeróbicos facultativos e espécies fastidiosas como *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* ou *S. pneumoniae*, onde o sangue desfibrinado de carneiro é adicionado.

O Ágar Mueller Hinton II é fabricado para conter baixos níveis de timina e timidina, bem como com níveis controlados de cálcio e magnésio. O uso de um meio com características de crescimento adequadas é essencial para o teste de susceptibilidade de microorganismos aos antibióticos. Também é recomendado para o teste das mais bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas mais encontradas.

A infusão de carne bovina e a peptona de caseína (H) provêem nitrogênio, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais para o crescimento. O amido absorve qualquer metabólito tóxico produzido. O ágar bacteriológico é o agente solidificante.

Instruções de Uso

Para diagnóstico clínico, o tipo de amostra é bactéria isolada da urina:

- Inocule de acordo com o método Kirby-Bauer.
- Incube em condições aeróbicas a 35 ± 2°C por 24-48 horas.
- Leia e interprete os resultados.

Para o teste de sensibilidade à antibióticos, de acordo com EUCAST:

- Dispense o meio em placas de petri estéreis a fim de formar uma profundidade de $4 \pm 0,5$ mm (aproximadamente 25 mL em uma placa circular de 90 mm, 31 mL em uma placa circular de 10 mm, 71 mL em uma placa circular de 150 mm e 40 mL em uma placa quadrada de 100 mm).
- Ajuste a densidade da suspensão de microorganismo de acordo com 0,5 de McFarmland adicionando salina ou mais bactéria. Um inóculo mais denso irá resultar em zonas de inibição reduzidas, assim como um inóculo menos denso terá o efeito contrário.
- A suspensão deve ser usada preferencialmente em 15 minutos e no máximo em 60 minutos após o preparo.
- Mergulhe um swab estéril de algodão na suspensão.
- Para evitar sobre-inoculação de bactérias gram negativas, remova o excesso de fluido pressionando e virando o swab contra a parede interna do tubo.
- Para bactérias gram positivas, não pressione ou vire o swab contra a parede interna do tubo.
- Aplique os discos dentro de 15 minutos após a inoculação.
- Incube a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas.
- As bordas de zona devem ser lidas no ponto de inibição completa, julgadas a olho nu com a placa a uma distância de 30 cm do olho.
- Leia as placas a partir da parte traseira, contra um fundo escuro iluminado com luz refletora.
- Em caso de colônias distintas dentro das zonas, verifique a pureza e repita o teste, se necessário.
- Para *Proteus spp.*, ignore o enxame e leia a inibição de crescimento.
- Em caso de zonas duplas, leia a zona interna.

Para o cultivo de espécies Neisseria:

- Incube em placas na temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$, em atmosfera de CO_2 , por 18-24 horas.

Controle de Qualidade

Solubilidade	Aparência	Cor do meio desidratado	Cor do meio preparado	pH final (25°C)
Ligeiramente opalescente	Pó fino	Creme	Sem sangue: âmbar opalescente; Com sangue: vermelho	$7,4 \pm 0,2$

Teste Microbiológico

Teste de sensibilidade por disco difusão. Condições de incubação: $35 \pm 2^\circ\text{C}$ / 24 h.

Diâmetro do halo em mm.

Microorganismo	Gentamicina 10 µg	Ampicilina 10 µg	Tetraciclina 30 µg	Polimixina B 300 µg	Trimetoprim (1,25 µg) + Sulfametoxazol (23,75 µg)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 CLSI	19-26	15-22	18-25	13-19	23-29
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 EUCAST	19-26	15-22		13-19	23-29
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 CLSI	19-27	27-35	24-30		24-32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 EUCAST					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 CLSI	17-23			14-18	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 EUCAST	17-23				
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 CLSI					
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 EUCAST					26-34
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 CLSI					

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 EUCAST	19-25		23-31		26-32
---	-------	--	-------	--	-------

Armazenamento

Armazenar entre 2 e 25°C

Referências

Mueller and Hinton A. Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 48:330. 1941.

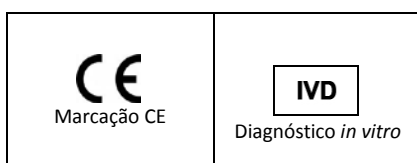
Harris and Coleman Diagnostic.

Procedures and Reagents. 4th Edition APH, Inc. New York, 1963.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993.

Atlas, R.M. 1993 Handbook of microbiological media. CRC Press, Boca Raton. FL.

Tabela de Símbolos



Para maiores informações

Telefone: (41) 3535-0900

Fax: (41) 3535-0901

E-mail: kasvi@kasvi.com.br

URL: www.kasvi.com.br